

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH  
BUDĚJOVICÍCH  
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA**

**VYBRANÉ ASPEKTY KVALITY A  
ZDRAVOTNÍ NEZÁVADNOSTI MLÉKA**

**Selected aspects of quality and safety of milk**

**HABILITAČNÍ PRÁCE**

**MVDr. LUCIE HASOŇOVÁ, Ph.D.**

**2019**

## **PODĚKOVÁNÍ**

Ráda bych na začátku poděkovala všem, bez kterých by tato habilitační práce nikdy nemohla vzniknout. Vzhledem k tomu, že je postavena především na publikacích, které byly výsledkem výzkumné činnosti prováděné v rámci jednotlivých projektů, na předchozím i současném pracovišti, mé poděkování patří všem spolupracovníkům řešených projektů a spoluautorům jednotlivých publikací.

## PŘEDMLUVA

Předkládaná habilitační práce je složena ze dvou hlavních částí – z literární rešerše a komentované části. Předmětem komentované části je soubor článků publikovaných od roku 2009 ve vědeckých časopisech s impakt faktorem, v recenzovaných vědeckých časopisech a součástí je též kapitola z vědecké monografie, vydané na Jihočeské univerzitě v Českých Budějovicích. Odkazy na citace těchto publikací jsou v textu zvýrazněny tučným písmem.

Záběr habilitační práce je vzhledem k širší tématice jednotlivých publikací poněkud obsáhlejší. Na druhou stranu takový je i potravinový řetězec, složený z mnoha proměnných. V celé práci je však neustále pozornost soustředěna na problematiku mléka, jeho kvalitu a zdravotní nezávadnost v průběhu celého mléčného řetězce, tj. od zdravé dojnice až k pokud možno informovanému spotřebiteli.

*Kdykoliv v nějaké věci naleznu myšlenku zdravější,  
rád ustoupím od předešlé věda,  
že co vím, jest jen nejmenší část toho,  
co nevím.*

Jan Hus

# OBSAH

	<b>PŘEDMLUVA</b>	
	<b>SEZNAM ZKRATEK</b>	
<b>1</b>	<b>ÚVOD</b>	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>LITERÁRNÍ REŠERŠE</b>	<b>9</b>
<b>2.1</b>	<b>Mastné kyseliny mléčného tuku</b>	<b>9</b>
<b>2.1.1</b>	<b><i>Původ FA mléčného tuku</i></b>	<b>11</b>
2.1.1.1	<i>De novo syntéza v mléčné žláze</i>	11
2.1.1.2	<i>FA z cirkulace</i>	12
<b>2.1.2</b>	<b><i>Nutriční a zdravotní hledisko FA mléčného tuku</i></b>	<b>14</b>
2.1.2.1	<i>Nasyčené FA</i>	14
2.1.2.2	<i>Monoenové FA</i>	17
2.1.2.3	<i>Polyenové FA řady n-3 a n-6</i>	18
2.1.2.4	<i>Konjugovaná kyselina linolová</i>	19
<b>2.2</b>	<b>Potenciální zdravotní rizika konzumace mléka a mléčných výrobků</b>	<b>20</b>
<b>2.2.1</b>	<b><i>Historicky významná onemocnění z mléka</i></b>	<b>22</b>
2.2.1.1	<i>Brucelóza</i>	22
2.2.1.2	<i>Zoonotická tuberkulóza</i>	23
<b>2.2.2</b>	<b><i>Nejčastěji zjišťovaná onemocnění z mléka</i></b>	<b>25</b>
2.2.2.1	<i>Kampylobakteriόza</i>	27
2.2.2.2	<i>Salmonelόza</i>	28
2.2.2.3	<i>Stafylokoková enterotoxikόza</i>	29
2.2.2.4	<i>Emetický a diarhogenní syndrom vyvolaný Bacillus cereus</i>	31
2.2.2.5	<i>Gastroenteritida vyvolaná Escherichia coli</i>	33
2.2.2.6	<i>Listeriόza</i>	34
<b>2.2.3</b>	<b><i>Prevence onemocnění z mléka</i></b>	<b>35</b>
<b>2.2.4</b>	<b><i>Ekonomický význam onemocnění z potravin</i></b>	<b>36</b>
<b>3</b>	<b>KOMENTOVANÁ ČÁST HABILITAČNÍ PRÁCE</b>	<b>39</b>
<b>3.1</b>	<b>Faktory ovlivňující profil FA mléčného tuku</b>	<b>39</b>
<b>3.1.1</b>	<b><i>Vliv laktace a energetického statusu dojníc na profil FA mléčného tuku</i></b>	<b>40</b>
3.1.1.1	<i>Vliv stadia laktace</i>	40
3.1.1.2	<i>Vliv pořadí laktace</i>	43
3.1.1.3	<i>Zdravotní hledisko profilu FA ve vztahu k laktaci</i>	44
3.1.1.4	<i>Zhodnocení podílu faktorů na variabilitě FA mléčného tuku</i>	45
<b>3.2</b>	<b>Od zvířete k člověku aneb rizika v průběhu potravinového, především mléčného, řetězce</b>	<b>47</b>
<b>3.2.1</b>	<b><i>Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis, výskyt a možná role v potravinovém řetězci</i></b>	<b>49</b>
3.2.1.1	<i>Vylučování MAP mlékem</i>	49
3.2.1.2	<i>Prevalence MAP v mléce a mléčných výrobcích</i>	52

3.2.1.3	<i>Diseminace MAP v organismu</i>	55
3.2.1.4	<i>MAP jako potenciální zoonotický patogen</i>	57
3.2.2	<b>Zhodnocení výsledků kontrol kvality a bezpečnosti potravin v České republice</b>	60
3.2.2.1	<i>Chemické kontaminanty v surovinách živočišného původu</i>	60
3.2.2.2	<i>Zhodnocení kontrol zaměřených na falšování potravin</i>	65
3.2.3	<b>Spotřebitel a jeho role z hlediska bezpečnosti potravin</b>	69
3.2.4	<b>Změny související s bezpečností potravinového řetězce</b>	71
4	<b>ZÁVĚREČNÁ SHRNU TÍ A SMĚRY DALŠÍHO VÝZKUMU</b>	75
5	<b>POUŽITÁ LITERATURA</b>	78
6	<b>SEZNAM TABULEK</b>	98
7	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ A GRAFŮ</b>	99
8	<b>PŘÍLOHY</b>	100
8.1	<b>Seznam publikací, které jsou součástí habilitační práce</b>	
8.1.1	<i>Publikace tvořící základ kapitoly 3.1</i>	
8.1.2	<i>Publikace tvořící základ kapitoly 3.2</i>	
8.1.3	<i>Vědecká monografie</i>	
8.2	<b>Výzkumné projekty podporující vznik uvedených publikací</b>	

## SEZNAM ZKRATEK

AI	aterogenní index;
AIDS	syndrom získané imunitní nedostatečnosti;
ALA	$\alpha$ -linolenová kyselina;
ARA	arachidonová kyselina;
BCFA	rozvětvené mastné kyseliny;
BCS	hodnocení tělesné kondice;
C18	mastné kyseliny stearová, olejová, linolová a $\alpha$ -linolenová;
CFU	kolonie tvořící jednotka;
CL	cizorodá látka;
CNS	centrální nervový systém;
CLA	konjugovaná linolová kyselina;
CoA	koenzym A;
DDD	dichlordifenyldichlorethan;
DDE	dichlordifenyldichlorethen;
DDT	dichlordifenyiltrichlorethan;
DHA	dokosahexaenová kyselina;
EFSA	Evropský úřad pro bezpečnost potravin;
EHEC	enterohemoragické kmeny <i>Escherichia coli</i> ;
EPA	eikosapentaenová kyselina;
FA	mastné kyseliny;
FAO	Organizace pro výživu a zemědělství;
HDL	lipoproteiny s vysokou hustotou;
HFA	hypercholesterolemické mastné kyseliny ( $\Sigma$ C12:0, C14:0 a C16:0);
HUS	hemolyticko-uremický syndrom;
LA	linolová kyselina;
LCFA	mastné kyseliny s dlouhým uhlíkovým řetězcem ( $\Sigma$ C18 – C24);
LDL	lipoproteiny o nízké hustotě;
MAP	<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i> ;
MCFA	mastné kyseliny se středně dlouhým uhlíkovým řetězcem ( $\Sigma$ C12 – C17);
MRL	maximální reziduální limit;
MTBC	komplex <i>Mycobacterium tuberculosis</i> ;
MU	mízní uzliny;
MUFA	monoenuové nenasycené mastné kyseliny;
NEB	negativní energetická bilance;
NEFA	neesterifikované mastné kyseliny;
OBCFA	nasycené mastné kyseliny s lichým počtem uhlíků a rozvětvené mastné kyseliny;
OCFA	mastné kyseliny s lichým počtem uhlíků;
PCR	polymerázová řetězová reakce;
PUFA	polyenuové nenasycené mastné kyseliny;
PUFA <i>n</i> -3	polyenuové nenasycené mastné kyseliny řady <i>n</i> -3;
PUFA <i>n</i> -6	polyenuové nenasycené mastné kyseliny řady <i>n</i> -6;

RA	rumenová kyselina;
SA	<i>Staphylococcus aureus</i> ;
SCFA	mastné kyseliny s krátkým uhlíkovým řetězcem ( $\Sigma$ C4 – C10);
SE	stafylokokové enterotoxiny;
SFA	nasyčené mastné kyseliny;
STEC	shigatoxigenní kmeny <i>Escherichia coli</i> ;
SZÚ	Státní zdravotní ústav;
TAG	triacylglyceroly;
TB	tuberkulóza;
TI	trombogenní index;
TVA	vakcenová kyselina;
UFA	nenasyčené mastné kyseliny;
UHT	vysokoteplotní ošetření mléka;
VLDL	lipoproteiny o velmi nízké hustotě;
WHO	Světová zdravotnická organizace;

# 1 ÚVOD

Mléko představuje jednu ze základních potravin pro několik milionů lidí celosvětově tím, že poskytuje důležité makro- a mikroživiny. Vzhledem ke svému složení je považováno za prospěšné především v dětství a v období adolescence, avšak v mnoha oblastech světa je mléko konzumováno během celého života. Celosvětová produkce mléka má stoupající tendenci, což koresponduje i s trvalým nárůstem lidské populace – tato v roce 2013 čítala 7,213 mld., v roce 2018 již 7,632 mld. lidí. Nárůst celosvětové populace činí za posledních 20 let 1,644 mld. lidí, s průměrným ročním nárůstem o 0,082 mld.

Vzhledem k významnému postavení mléka ve stravě, je kvalitě a zdravotním přínosům mléka a mléčných výrobků trvale věnována vysoká pozornost. Tato skutečnost je v současné době navíc silně podpořena zájmem veřejnosti o kvalitu, bezpečnost, potenciální přínosy potravin a dokonce i o welfare chovaných zvířat. Spotřebitelé jsou obecně více orientováni na zlepšování kvality svého života a jsou kritičtější a náročnější i při výběru potravin.

Jedním z hlavních ukazatelů kvality mléka, který je rozhodující i z hlediska jeho zpeněžování, je mléčný tuk. Podobně jako mnoho jiných živin, i mléčný tuk prošel obdobími zvýšené skepse, především pro vyšší zastoupení nasycených mastných kyselin, a naopak obdobími zájmu. V tomto jistě napomáhají i četné studie zaměřené na zdraví prospěšné mastné kyseliny. Snaha příznivě ovlivňovat zastoupení těchto mastných kyselin, a tím zvyšovat nutriční kvalitu mléka a mléčných výrobků, je vyvolána i současnou rostoucí potřebou konzumace potravin s vyšší přidanou hodnotou. Nedílnou součástí kvality potravin by měla být i jejich zdravotní nezávadnost, zahrnující širokou škálu ukazatelů, kterými lze suroviny a potraviny v průběhu celého potravinového řetězce kontrolovat.

Předkládaná habilitační práce se věnuje **i)** vybraným biologickým faktorům, které ovlivňují profil mastných kyselin mléčného tuku, a dále **ii)** vybraným ukazatelům zdravotní nezávadnosti mléka od prvovýroby až k samotnému konzumentovi.



## 2 LITERÁRNÍ REŠERŠE

### 2.1 MASTNÉ KYSELINY MLÉČNÉHO TUKU

Základ části literární rešerše, která se týká mastných kyselin, tvoří charakteristika mastných kyselin a pojednání o jejich původu a nutričním a zdravotním významu. Na tuto část poté úzce navazuje komentovaná část habilitační práce, která se věnuje faktorům ovlivňujícím profil mastných kyselin.

Mléčný tuk, který je jednou z nejdůležitějších složek mléka, ovlivňuje technologické, sensorické a nutriční vlastnosti nejen mléka, ale též mléčných výrobků. Představuje hlavní energetickou složku mléka a je téměř kompletně (~98 %) složen z triacylglycerolů (**TAG**) (Taylor et MacGibbon, 2002). TAG jsou tvořeny z glycerolového řetězce a tří mastných kyselin (**FA**; *fatty acids*). Glasser et al. (2007) uvádí, že vzhledem k tomu, že mléčný tuk je tvořen převážně z TAG, potom jej z 93,3 % tvoří FA. V mléčném tuku je zastoupeno více než 400 jednotlivých FA (Jensen, 2002; Parodi, 2004; Månsson, 2008), přičemž za hlavní je označováno přibližně 20 z nich (**Tabulka 1**).

Většina z těchto základních FA, ale i řada dalších, minoritních FA, jsou studovány pro jejich potenciální pozitivní účinky na zdraví lidí i zvířat (Mills et al., 2011; Gómez-Cortés et al., 2018). Jmenované skutečnosti objasňují, proč je o problematiku FA již po mnoho dekad enormní zájem. Například jenom o konjugované linolové kyselině bylo v období 2008 – 2018 publikováno více než 5 tisíc vědeckých prací (Gómez-Cortés et al., 2018).

Mastné kyseliny lze podle výskytu a počtu dvojných vazeb klasifikovat jako nasycené (**SFA**), které neobsahují dvojnou vazbu a nenasycené (**UFA**) obsahující jednu (**MUFA**) nebo více dvojných vazeb (**PUFA**). Umístění dvojných vazeb je počítáno z karboxylového uhlíku, označovaném jako uhlík 1. Pozice dvojných vazeb může být počítána též od methylové skupiny a je vyjadřována např. jako omega-3, n-3 nebo  $\omega$ -3, přičemž v tomto případě se první dvojná vazba vyskytuje na třetím uhlíku od methylové skupiny (Harvey et Ferrier, 2011). Polyenové FA se takto rozdělují na PUFA n-6 a n-3 (běžně označovány jako PUFA  $\omega$ -6 a  $\omega$ -3). V případě UFA se navíc rozlišuje prostorové uspořádání podle pozice dvojných vazeb na konfiguraci *cis* nebo *trans*. Běžně se v mléce délka uhlíkového řetězce FA pohybuje v rozmezí 4 až 22 uhlíků v konfiguraci *cis* (Lichtenstein et Jones, 2012).

**Tabulka 1 Přehled hlavních mastných kyselin mléčného tuku**

Skupina (zkratka)	značení	systematický název	triviální název (zkratka)
<b><i>Nasycené (SFA)</i></b>			
	C4:0	butanová	máselná
	C6:0	hexanová	kapronová
	C8:0	oktanová	kaprylová
	C10:0	dekanová	kaprinová
	C12:0	dodekanová	laurová
	C14:0	tetradekanová	myristová
	C16:0	hexadekanová	palmitová
	C18:0	oktadekanová	stearová
	C20:0	eikosanová	arachová
	C22:0	dokosanová	behenová
<b><i>Nenasycené monoenové (MUFA)</i></b>			
	C14:1 n-5	9 <i>cis</i> -tetradecenová	myristolejová
	C16:1 n-7	9 <i>cis</i> -hexadecenová	palmitolejová
	C18:1 n-9	9 <i>cis</i> -oktadecenová	olejová
	C18:1 n-9	9 <i>trans</i> -oktadecenová	elaidová
	C18:1 n-7	11 <i>trans</i> -oktadecenová	vakcenová (TVA)
	C22:1 n-9	13 <i>cis</i> -dokosenová	eruková
	C20:1 n-11	9 <i>cis</i> -eikosenová	gadolejová
<b><i>Nenasycené polyenové (PUFA)</i></b>			
	C18:2 n-7	9,11 <i>cis</i> -, <i>trans</i> -oktadekadienová	rumenová (RA) = isomer konjugované linolové (CLA)
<b><i>řada n-6</i></b>	C18:2 n-6	9,12 <i>cis</i> -, <i>cis</i> -oktadekadienová	linolová (LA)
	C18:3 n-6	6,9,12 all- <i>cis</i> -oktadekatrienová	$\gamma$ -linolenová
	C20:4 n-6	5,8,11,14 all- <i>cis</i> -eikosatetraenová	arachidonová (ARA)
<b><i>řada n-3</i></b>	C18:3 n-3	9,12,15 all- <i>cis</i> -oktadekatrienová	$\alpha$ -linolenová (ALA)
	C20:5 n-3	5,8,11,14,17 all- <i>cis</i> -eikosapentaenová	timnodová (EPA)
	C22:6 n-3	4,7,10,13,16,19 all- <i>cis</i> -dokosahexaenová	cervonová (DHA)

Upraveno podle: Velíšek et Hajšlová, 2009; Samková et al. (2012)

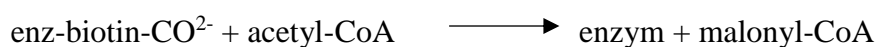
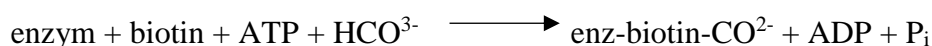
## 2.1.1 Původ FA mléčného tuku

Mastné kyseliny mléčného tuku pocházejí ze dvou zdrojů: (1) vznikají *de novo* syntézou v mléčné žláze (cca 40 %) a (2) jsou vychytávány z cirkulace jako již vytvořené (cca 60 %) (Chilliard et al., 2000; Cozma et al., 2013). Mléčný tuk obsahuje rovněž minoritní FA – FA s lichým počtem uhlíků C13:0 až C19:0 a rozvětvené FA, souhrnně nazývané jako *odd- a branched chain* FA (**OBCFA**), které syntetizuje převážně bachorová mikrobiota (Dewhurst et al., 2003; Loor et al., 2005). Podle některých studií je C15:0 a C17:0 rovněž syntetizována *de novo* z propionátu v některých tkáních včetně tkáně mléčné žlázy (Vlaemink et al., 2006).

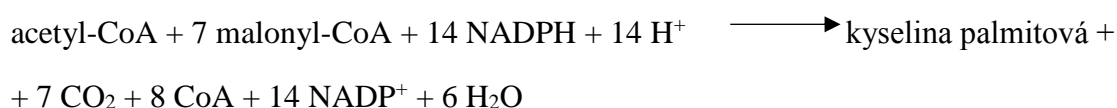
### 2.1.1.1 *De novo* syntéza v mléčné žláze

Prekurzory *de novo* syntézy jsou acetát a butyrát, které vznikají mikrobiální fermentací celulózy a hemicelulózy v bachoru. Butyrát je přeměněn na  $\beta$ -hydroxybutyrát ve stěně bachoru (Jensen, 2002). Mléčná žláza využívá acetát a  $\beta$ -hydroxybutyrát k syntéze C4:0 až C12:0, dále většiny kyseliny myristové (cca 95 %) a přibližně poloviny kyseliny palmitové (Shingfield et al., 2013).

Pro *de novo* syntézu FA jsou klíčovými enzymy acetyl-CoA karboxyláza a FA syntáza (Chilliard et Ferlay, 2004). Acetát a  $\beta$ -hydroxybutyrát shodně přispívají čtyřmi atomy uhlíku na iniciální jednotku. Acetát je transformován na acetyl-CoA a použit na prodlužování řetězce syntetizované FA přes malonyl-CoA, zatímco  $\beta$ -hydroxybutyrát je aktivován na butyryl-CoA a poté začleněn do řetězce vznikající FA (Shingfield et al., 2010). Acetyl-CoA karboxyláza katalyzuje tvorbu malonyl-CoA z acetátu ve dvou fázích:



zatímco FA syntáza katalyzuje kondenzační cykly malonyl-CoA s acetyl-CoA nebo butyryl-CoA (Chilliard et al., 2000):



FA s dlouhým řetězcem, obsahující 16 a více atomů uhlíku, jsou známé tím, že snižují syntézu FA epiteliálními buňkami mléčné žlázy u krav nebo koz tím, že přímo inhibují acetyl-CoA karboxylázu. Výraznější inhibiční účinky byly prokázány u FA s delším uhlíkovým řetězcem a/nebo vyšším stupněm nenasycenosti (Barber et al., 1997). Tento jev vysvětluje

pokles koncentrace FA se středně dlouhým řetězcem v mléčném tuku, který následuje po zvýšeném přísunu FA s dlouhým řetězcem do mléčné žlázy ať již z krmiva nebo z mobilizace tělních tuků (Chilliard et al., 2000).

### **2.1.1.2 FA z cirkulace**

Zbývající část kyseliny palmitové a všechny FA s dlouhým řetězcem pocházejí z cirkulujících jednak lipoproteinů bohatých na TAG (jedná se o VLDL = lipoproteiny o velmi nízké hustotě a chylomikrony) a dále z neesterifikovaných FA (NEFA). Tyto pocházejí z absorpce lipidů ve střevě a z mobilizace tukových rezerv (Palmquist, 1993; Bauman et Griinari, 2003; Shingfield et al., 2010). Enzym, který v mléčné žláze umožňuje hydrolyzu TAG a vychytávání NEFA, je lipoproteinová lipáza (Chilliard et Ferlay, 2004).

FA vychytávané z cirkulace, pro které má angličtina poměrně výstižný termín „*preformed*“, pocházejí především z krmiva a z mikrobiální činnosti v bachoru a jsou následně absorbovány ve střevě (Bauman et Griinari, 2001). Do střeva se dostávají obvykle v neesterifikované formě, jsou absorbovány ve dvanáctníku, v enterocytech jsou esterifikovány a ve spojení s fosfolipidy a estery cholesterolu procházejí jako VLDL a chylomikrony do periferní krve (Vernon et Flint, 1988). Uvnitř enterocytů může být určité množství kyseliny stearové před esterifikací desaturováno na kyselinu olejovou (Bickerstaffe et al., 1972). Zbytek cirkulujících FA pochází z mobilizace tělních tukových rezerv a představuje méně než 10 % FA mléčného tuku (Shingfield et Griinari, 2007). Podíl FA z lipomobilizace se však zvyšuje na začátku laktace, ale i v jiném období, pokud se organismus nachází ve stavu negativní energetické bilance (NEB) (Bauman et Griinari, 2003). Vzhledem k tomu, že kyselina stearová a olejová jsou hlavními FA tukové tkáně přežvýkavců, mobilizací dochází k prudkému nárůstu jejich koncentrace v mléce (Chilliard et al., 2003).

FA s dlouhým řetězcem vstupující do sekrečních buněk mléčné žlázy nemohou být prodlužovány, ale mohou být desaturovány (Chilliard et Ferlay, 2000) pomocí v sekrečních buňkách přítomného enzymu  $\delta$ -9 desaturázy, která katalyzuje vznik *cis*-9 dvojně vazby v řetězci FA (Shingfield et al., 2010). Například desaturací kyseliny stearové vzniká kyselina olejová, z kyseliny palmitové vzniká kyselina palmitolejová (Žák et al., 2011). Předpokládá se, že aktivita  $\delta$ -9 desaturázy v mléčné žláze přežvýkavců je mechanismem, kterým je zajištěna tekutost mléka, a tedy jeho efektivní využití mládětem (Timmen et Patton, 1988). V tomto ohledu se mléčná žláza podílí na 60 – 80 % celkového množství kyseliny olejové vylučované mlékem (Glasser et al., 2007; Shingfield et al., 2013). Podobně se odhaduje, že  $\delta$ -9 desaturáza

přispívá k 90 % kyseliny myristolejové a 50 % kyseliny palmitolejové (Mosley et McGuire, 2007). Jako substráty pro  $\delta$ -9 desaturázu mohou být využity i FA s kratším uhlíkovým řetězcem jako je C10:0, C12:0, C14:0, C15:0 a C17:0 (Shingfield *et al.*, 2010). Navíc se odhaduje, že 25 % kyseliny vakcenové (**TVA**) vznikající v bachoru je v mléčné žláze desaturováno na kyselinu rumenovou (**RA**), hlavní isomer CLA v mléce (Mosley et al., 2006). Tedy endogenní syntéza, probíhající v mléčné žláze z TVA, je zodpovědná za 70 – 95 % RA mléka (Shingfield et al., 2013).

Přežvýkavci přijímají krmivem cca 20 – 40 g lipidů/kg sušiny s vysokým zastoupením PUFA (Shingfield et al., 2010), z nichž jsou nejvíce zastoupeny kyseliny linolová (**LA**) a  $\alpha$ -linolenová (**ALA**). Některé olejniny kromě toho poskytují MUFA, zatímco mořské produkty (rybí olej, řasy) poskytují PUFA s dlouhým řetězcem (hlavně kyselinu eikosapentaenovou - **EPA**) a kyselinu dokosaheptaenovou (**DHA**) (Chilliard et al., 2007).

Iniciální přeměnou lipidů krmiva po vstupu do bachoru je hydrolýza esterových vazeb v TAG, fosfolipidech a glykolipidech (Lock et Bauman, 2004). Po této lipolýze zprostředkované bakteriálními lipázami v bachoru, jsou uvolněné NEFA adsorbovány na částičky krmiva a hydrogenovány nebo přímo začleněny do bakteriálních lipidů (Shingfield et al., 2010). Druhým hlavním krokem v metabolismu lipidů krmiva v bachoru je biohydrogenace nenasycených NEFA (Lock et Bauman, 2004). Pro většinu krmiv dosahuje biohydrogenace v průměru 80 % pro LA a 92 % pro ALA (Doreau et Ferlay, 1994). Metabolismus LA a ALA začíná isomerizací *cis*-12 dvojných vazeb a tvorbou konjugované C18:2, resp. C18:3 FA. Konjugované produkty jsou dále hydrogenovány do TVA a poté do finálního produktu C18:0 (Harfoot et Hazlewood, 1997). Finální fáze hydrogenace je limitována rychlostí, takže *trans*-18:1 meziproducty se mohou kumulovat a teprve poté opouštět bachor (Shingfield et al., 2010). Bachorová biohydrogenace PUFA z krmiv vytváří množství FA meziproductů, které následně mohou být začleněny do mléčného tuku. Výskyt široké škály isomerů *trans*-18:1, C18:2 a C18:3 FA obsahujících jednu nebo více *trans* dvojných vazeb naznačuje, že metabolické dráhy biohydrogenace jsou mnohem komplexnější, než se dříve předpokládalo. Proto byly nedávné studie orientovány na charakterizaci dalších alternativních drah, které se podílejí na tvorbě specifických meziproductů během biohydrogenace FA v bachoru (Shingfield et al., 2010).

Bachorová biohydrogenace, která je prováděna pouze některými druhy z bohaté bachorové mikrobiální populace, je mechanismem, kterým se mikroorganismy v podstatě chrání proti toxickému působení PUFA na mikrobiální růst (Buccioni et al., 2012). Z mikrobiálního

osazenstva bachoru jsou za biohydrogenaci zodpovědné hlavně bakterie (Jenkins et al., 2008). Metabolismus LA a ALA zahrnuje dvě skupiny bachorových bakterií: skupinu, která hydrogenuje PUFA na *trans*-18:1 FA, a skupinu, která hydrogenuje *trans*-18:1 FA na C18:0 (Harfoot et Hazlewood, 1997). Nedávné studie ukázaly, že hlavní význam v biohydrogenaci mají celulólytické bakterie rodu *Butyrivibrio*. Bylo zjištěno, že *Butyrivibrio fibrisolvens* produkuje RA a TVA z LA, ale netvoří kyselinu stearovou (Jenkins et al., 2008). *Butyrivibrio hungatei* a *Butyrivibrio proteoclasticum* jsou zástupci, kteří jsou schopni produkce kyseliny stearové (Buccioni et al., 2012).

## 2.1.2 Nutriční a zdravotní hledisko FA mléčného tuku

Tradiční pohled na hodnocení vztahu mezi stravou a zdravím je zaměřen na jednotlivé oddělené složky potravy. Tento tzv. redukcionistický přístup spojující jednu konkrétní živinu s jedním konkrétním účinkem na zdraví může být částečným vysvětlením určitých nesrovnalostí mezi očekávaným a skutečně dosaženým účinkem, ať již pozitivním nebo negativním. Strava samozřejmě není tvořena pouze z jednotlivých živin, ale obvykle jde o velice pestré kombinace mnoha živin. Potravinou svou komplexní strukturou mohou ovlivňovat jak trávení a absorpci živin, tak vznik různých interakcí uvnitř organismu. Tím se následně mohou měnit i bioaktivní vlastnosti živin. V poslední době se tak do popředí zájmu dostává přístup holistický, který zvažuje působení živin v přirozených kombinacích a systémech. V souladu s uvedeným se současné výzkumy zaměřují na studium působení konkrétních živin podávaných v komplexních potravinových systémech a na vzájemné podpůrné i protichůdné fungování v nich (Raziani et al., 2016; Thorning et al., 2016; 2017). Následující informace však zatím vycházejí především z dříve uplatňovaného izolovaného přístupu k živinám a jejich zdravotnímu prospěchu či naopak zdravotním rizikům.

### 2.1.2.1 Nasycené FA

Podle délky uhlíkového řetězce jsou FA rozlišovány na SFA s krátkým (C4 – C6; **SCFA** – *short-chain fatty acid*), středně dlouhým (C8 – C12; **MCFA** – *medium-chain fatty acid*), dlouhým (C14 – C18; **LCFA** – *long-chain fatty acid*), velmi dlouhým (C20 – C26) a ultra dlouhým řetězcem (C28 – C38) (Velíšek et Hajšlová, 2009).

Náhled na negativní vliv zejména tří zástupců SFA – kyselin laurové, myristové a palmitové – se za poslední období značně proměnil. V minulosti byly tyto tři FA, přítomné v poměrně značných množstvích i v mléčném tuku, považovány za hypercholesterolemické

**(HFA)** (Parodi, 2009). Řadu let platná výživová doporučení týkající se minimalizace jejich konzumace v mléčných, zejména plnotučných, výrobcích, uváděla ve spojení s nimi riziko rozvoje metabolického syndromu a kardiovaskulárních onemocnění. Na základě uvedených zdravotních rizik navrhli Ulbricht et Southgate (1991) využívání aterogenního (**AI**) a trombogenního (**TI**) indexu k hodnocení kvality konzumovaných tuků. Studie provedené v posledních letech jsou ovšem v rozporu s tvrzením, že by právě konzumace mléka a mléčných výrobků zvyšovala syntézu lipoproteinů o nízké hustotě (**LDL**; *low density lipoproteins*), a tím riziko koronárních onemocnění (German et al., 2009; Lovegrove et Givens, 2016; Guo et al., 2017). Nedávný výzkum navíc ukázal, že některé složky mléka a mléčných výrobků, hlavně vápník, fosfor, bílkoviny a též membrány tukových kapének nebo startovací kultury u fermentovaných výrobků, modifikují odpovědi krevních lipidů na příjem SFA (Thorning et al., 2017). Tedy zmíněné SFA nemusejí nutně negativně ovlivňovat kardiovaskulární ukazatele, jsou-li dodávány spolu s dalšími komponenty, tj. v přirozených kombinacích, jaké poskytuje i mléčný systém.

Nasyčené FA tvoří v mléce přežvýkavců 60 – 70 % ze všech FA (**Tabulka 2**). Hlavním zástupcem této skupiny v mléčném tuku většiny savců je kyselina palmitová (26 – 35 %). Dalšími významnými zástupci jsou kyselina stearová (5 – 15 %) a myristová (cca 10 %) (Jensen, 2002; Mensink, 2005; Belitz et al., 2009). Vyšší koncentrace kyselin kapronové, kaprylové a kaprinové v kozím a ovčím mléce v porovnání s kravským způsobují specifické aroma těchto mlék (Tudisco et al., 2010). Navíc mohou mít tyto FA podpůrné účinky na lidské zdraví díky antibakteriálnímu a antivirotickému působení a dále tím, že pomáhají uvolňovat vytvořená cholesterolová depozita. Z nutričního hlediska je příznivá i jejich lepší stravitelnost (Strzałkowska et al., 2009; Markiewicz-Keszycka et al., 2013).

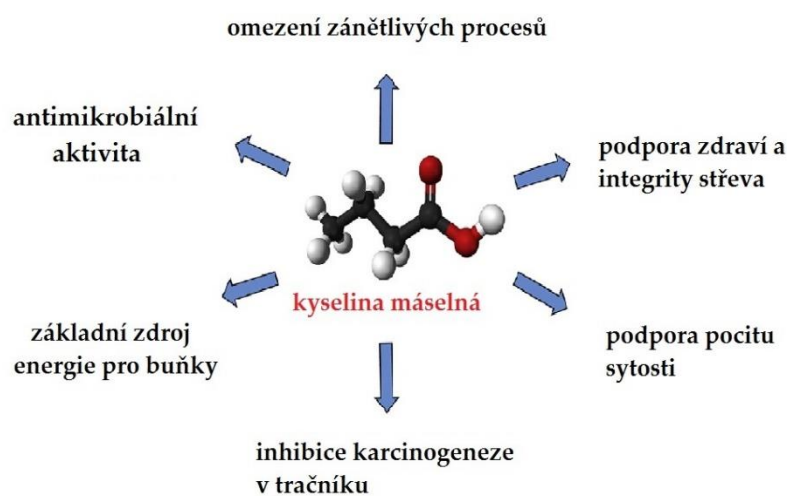
Ze skupiny SCFA je v mléce a mléčných výrobcích nejvýznamnější kyselina máselná. V lidském organismu má řadu funkcí (**Obrázek 1**), např. je zdrojem energie pro střevní epitelální buňky. Tím má zcela zásadní roli z hlediska udržení homeostáze a zdraví tračnicku (Hamer et al., 2008). V *in vitro* studiích bylo prokázáno, že přítomnost butyrátu prostřednictvím regulace genové exprese stimulovala u lidských buněčných linií produkci hlenu. Sekrece hlenu příznivě ovlivňuje adhezi probiotické mikrobioty a naopak působí inhibičně vůči patogenním bakteriím (Jung et al., 2015). Zajímavé jsou také studie zaměřené na protinádorové účinky butyrátu (Scharlau et al., 2009; Zhang et al., 2010). Je však třeba podotknout, že butyrát v organismu nepůsobí izolovaně, ale společně s dalšími složkami, např. střevní mikrobiotou

či vlákninou. Proto je zapotřebí dalších výzkumů, které by objasnily roli butyrátu, a to i v podmínkách *in vivo* (Scharlau et al., 2009).

**Tabulka 2 Profil mastných kyselin v mléce domácích přežvýkavců**

Mastné kyseliny (g.100g <sup>-1</sup> )	kravské	kozí	ovčí
C4:0	2,87	2,03	2,57
C6:0	2,01	2,78	1,87
C8:0	1,39	2,92	1,87
C10:0	3,03	9,59	6,63
C12:0	3,64	4,52	3,99
C14:0	10,92	9,83	10,17
C16:0	28,70	24,64	25,10
C18:0	11,23	8,87	8,85
C18:1 n-9	22,36	18,65	20,18
C18:2 n-6	2,57	2,25	2,32
C18:2 n-7	0,57	0,45	0,76
C18:3 n-3	0,50	0,77	0,92
total n-6	2,83	1,78	2,97
total n-3	0,56	0,44	1,31
SFA	68,72	68,79	64,23
MUFA	27,40	24,48	29,75
PUFA	4,05	3,70	4,82
Celkový tuk (g.100g <sup>-1</sup> )	3,76	4,27	6,09
n-6/n-3	6,01	5,00	2,31
AI	2,55	2,88	2,21
TI	3,22	3,17	2,49

SFA – nasycené mastné kyseliny; MUFA – monoenoové mastné kyseliny; PUFA – polyenoové mastné kyseliny; AI – aterogenní index; TI – trombogenní index. Upraveno podle: Markiewicz-Keszycska et al. (2013)



**Obrázek 1 Role kyseliny máselné v organismu**

upraveno podle: Gómez-Cortés et al. (2018)



Nejmenší podíl SFA (cca 4 %) mléčného tuku tvoří skupina rozvětvených FA (**BCFA**; *branched-chain* FA) a FA s lichým počtem uhlíků (**OCFA**; *odd-chain* FA). BCFA jsou hlavními lipidy bakteriálních membrán a v mléčném tuku jsou přítomné jako důsledek mikrobiálních aktivit v bachoru (Fievez et al., 2012). Mléko je právě díky mutualistickému propojení makroorganismu dojnice a bachorové mikrobioty zdrojem těchto FA, které sice představují jen velmi malý podíl (přibližně 2 %) ze všech FA mléčného tuku, avšak jejich význam v organismu je nezanedbatelný. Jako zajímavou informaci lze uvést, že tyto FA jsou hlavní složkou střeva u plodu v poslední fázi jeho vývoje a rovněž u novorozenců. Tvoří také přibližně 30 % z FA novorozeneckého mázku (*vernix caseosa*), voskovitého ochranného povlaku kůže, který je unikátní pro lidské plody a novorozence (Ran-Ressler et al., 2008). Mázek zabraňuje maceraci plodu plodovými vodami, snižuje tření během porodu a hydratuje a chrání kůži novorozence v prvních dnech po narození. Plodem polykané plodové vody spolu s mázkem zajišťují přísun bioaktivních látek do střeva a napomáhají vývoji střeva včetně jeho mikrobiální kolonizace (Tollin et al., 2005).

Ze skupiny OCFA jsou v mléčném tuku dominantní zejména dvě FA, a to C15:0 a C17:0. Zastoupení těchto dvou FA, které jsou široce používány jako biomarkery příjmu mléčného tuku, tvoří přibližně 1,5 % (Gómez-Cortés et al., 2018). Podobně jako BCFA, mají i OCFA různé bioaktivní účinky, avšak informace jsou zatím omezené a bude třeba v této oblasti dalšího poznání.

### **2.1.2.2 Monoenové FA**

Monoenové FA mají pozitivní vliv na koncentraci lipoproteinů o vysoké hustotě (**HDL**; *high density lipoproteins*), které transportují cholesterol z cévních stěn do jater (tzv. reverzní transport cholesterolu), kde je degradován pomocí žlučových kyselin a následně odstraněn z organismu. Současně snižují koncentraci LDL, které se ukládají do krevních cév (Markiewicz-Keszycka et al., 2013).

Podíl MUFA se v mléce přežvýkavců pohybuje v rozpětí od přibližně 20 do 35 % (**Tabulka 2**). Nejvíce zastoupenou FA z této skupiny je kyselina olejová, která je typická pro mléko většiny savců (Strzałkowska et al., 2009; Schmidely et Andrade, 2011; Mayer et Fiechter, 2012). Kravské mléko je na kyselinu olejovou nejbohatší (24 %), zatímco obsah v kozím a ovčím mléce tvoří v průměru 18 % ze všech FA mléčného tuku (Schmidely et Andrade, 2011). Z ostatních MUFA jsou v mléce přežvýkavců přítomna relativně malá, avšak

významná množství kyseliny myristolejové (cca 1 %) a palmitolejové (cca 1,5 %) a též prekursor CLA, kyselina vakcenová (1,5 – 5 %).

### **2.1.2.3 Polyenové FA řady n-3 a n-6**

Stravu obyvatel v rozvinutých zemích je možno charakterizovat nízkým podílem n-3 FA a vysokým podílem n-6 FA. Mastné kyseliny řady n-3 s dlouhým řetězcem – EPA a DHA mohou být do organismu jednak doplňovány stravou a dále mohou být v organismu syntetizovány z ALA. Nicméně syntéza DHA z ALA je velmi limitovaná a je účinnější spíše u kojenců (okolo 1 %) než u dospělých (Brenna et al., 2009). Proces syntézy může být navíc narušen vysokým příjmem LA, která blokuje enzym  $\delta$ -6 desaturázu a zabraňuje tak dalšímu prodlužování ALA (McManus et al., 2011). DHA tvoří hlavní stavební komponentu mozkových cév, sítnice a spermií. Má významné funkce ve vývoji kojenců a malých dětí. Aktivně se podílí na vývoji nervového systému, na procesu vidění a v prevenci zánětů. Požadavky na DHA prudce stoupají zejména v posledním trimestru intrauterinního života, tedy v čase zrychleného vývoje mozku (Helland et al., 2003). U starších jedinců je podpůrná v prevenci a léčbě stařecké demence.

Poměr n-6/n-3 se ve stravě většiny lidí pohybuje v rozpětí od 15:1 do 16,7:1. Nicméně doporučováno je zůstat u výrazně nižších podílů n-6. Optimální poměr by měl být specifický i podle konkrétního onemocnění. Např. v dietě astmatiků by měl být 5:1, zatímco u lidí trpících revmatoidní artritidou a tumory tračnicku je doporučován poměr 2,5:1. Světová zdravotnická organizace (**WHO**; *World Health Organization*) a Organizace pro výživu a zemědělství (**FAO**; *Food and Agriculture Organization*) doporučují, aby uvedený poměr byl pod 4. U tohoto poměru bylo prokázáno značné snížení (70 %) počtu úmrtí v důsledku kardiovaskulárních chorob (Simopoulos, 2008).

Výsledky klinických studií ukazují, že zvýšený podíl n-3 ve stravě podporuje prevenci a léčbu nádorových onemocnění, onemocnění srdce, trombózy, arteriální hypertenze, hyperlipidaemie, stařecké demence, Alzheimerovy nemoci, deprese a revmatoidní artritidy. Mastné kyseliny řady n-3 jsou rovněž používány v léčbě onemocnění kůže jako je psoriáza, akné či lupus erythematosus (McManus et al., 2011).

V mléčném tuku většiny savců je převládající n-3 mastnou kyselinou ALA. Ovcí a kozí mléko má obvykle nižší hodnotu poměru n-6/n-3 a vyšší koncentraci ALA v porovnání s mlékem kravským (Markiewicz-Keszycka et al., 2013).

#### **2.1.2.4 Konjugovaná kyselina linolová**

Konjugované kyselině linolové (CLA) je již několik dekad věnována značná pozornost. O uvedeném svědčí významné množství vědeckých publikací orientovaných na tuto molekulu (Gómez-Cortés et al., 2018). Souhrnný název CLA zahrnuje 28 pozičních a geometrických isomerů LA, které jsou charakterizovány přítomností konjugovaných dvojných vazeb neoddělených methylovou skupinou. Dvojně vazby jsou obvykle lokalizovány v pozicích 8 a 10, 9 a 11, 10 a 12, 11 a 13 a mohou být v *cis* nebo *trans* konfiguraci (Churruca et al., 2009). Z hlediska obsahu nejvíce zastoupeným isomerem mléčného tuku je RA, tvořící minimálně 75 % z celkové CLA. Ostatní CLA isomery jsou v mléčném tuku přirozeně zastoupeny ve velmi nízkých množstvích (okolo 0,01 – 0,1 % ze všech FA). Zdroj CLA ve stravě lidí představuje téměř výhradně konzumace masa přežvýkavců a tučných mléčných produktů (Van Wijlen et Colombani, 2010).

Celkové množství CLA a podíly jednotlivých isomerů ve tkáních a mléce závisí na mikrobiální populaci v bachoru a na skladbě krmné dávky. Množství CLA je vyšší v mase a mléce pasených dojnic (Churruca et al., 2009), což je v podstatě způsobené zvýšeným podílem TVA (Leiber et al., 2005; O'Donnell et al., 2010).

RA vykazuje protizánětlivé účinky v důsledku inhibice syntézy eikosanoidů (Belury, 2002). Množství stravou přijaté RA je z hlediska výsledných biologických účinků důležité. Nicméně zatím není mnoho studií hodnotících vliv příjmu mléčných výrobků obohacených o RA a získané výsledky se také různí. Např. Tricon et al. (2006) nezjistili u mužů středního věku statisticky významné změny zánětlivých markerů po konzumaci různých mléčných produktů obohacených o RA (1,4 g/den), zatímco Sofi et al. (2010) prokázali statisticky významný pokles zánětlivých cytokinů u dospělých osob při příjmu 0,14 g/den RA, která byla obsažena v ovčím sýru Pecorino. K podobným výsledkům dospěli i Penedo et al. (2013) s využitím másla obohaceného o RA (1 g/den) u mladých dospělých osob.

Studie prováděné *in vitro* a na zvířatech naznačují, že CLA vykazuje imunostimulační, antihypertenzní, antikarcinogenní a antiaterogenní vlastnosti a některé její isomery podporují redukci tělesné hmotnosti (Mougios et al., 2001; Wahle et al., 2004). Účinky CLA na lidský organismus však zatím byly ověřeny jen omezeným počtem *in vivo* studií a jejich výsledky nejsou zcela přesvědčivé.

## 2.2 POTENCIÁLNÍ ZDRAVOTNÍ RIZIKA KONZUMACE MLÉKA A MLÉČNÝCH VÝROBKŮ

Jako základ této části literární rešerše byla použita aktualizovaná kapitola z vědecké monografie **Mléko: produkce a kvalita**, která je součástí Příloh. Na tuto část poté navazuje komentovaná část habilitační práce, která se zaměřuje na vybrané mikroorganismy v mléce, zhodnocení kontrol surovin a potravin s ohledem na výskyt cizorodých látek, na klamání spotřebitelů a v neposlední řadě i na rizikové chování samotných konzumentů při zacházení se surovinami a potravinami.

**Hasoňová, L.** Potenciální zdravotní rizika konzumace mléka a mléčných výrobků. In Samková, E. et al. (ed.). *Mléko: produkce a kvalita*. Vědecká monografie, 1. vyd., České Budějovice: JU ZF, 2012. ISBN 978-80-7394-383-7. s. 17-25.

V posledních dekádách je pozorována vzestupná tendence výskytu onemocnění přenášených potravinami. Příčiny lze spatřovat v měnícím se životním stylu (trend zdravého způsobu stravování bez konzervace potravin konzervačními látkami i teplem) a samozřejmě v trvalém procesu přizpůsobování se patogenních mikroorganismů měnícím se životním podmínkám (Jičínská et Havlová, 1995).

Ačkoliv mléko a výrobky z něj vyrobené tvoří důležitou součást zdravého způsobu stravování, jsou-li konzumovány nepasterizované nebo nedostatečně pasterizované, mohou představovat zdravotní riziko, neboť mléko je svým složením, vysokou vodní aktivitou a optimálním pH, ideálním živným a ochranným médiem pro mikroorganismy (Leroy et Vuyst, 2004; Belloque et al., 2009; Quigley et al., 2013).

V ČR byl v roce 1999 povolen přímý prodej syrového mléka „ze dvora“ a v roce 2007 také prodej mléka z mléčných automatů. Možnost nákupu syrového mléka je pro spotřebitele jistě zajímavá, při nedodržování pravidel zacházení s touto surovinou však může představovat zdravotní riziko.

Mléko a výrobky z něj vyrobené mohou být totiž zdrojem:

1. patogenních mikroorganismů vyvolávajících při pomnožení v lidském organismu bakteriální infekce,
2. patogenních bakterií produkujících v organismu toxické metabolity, které vyvolávají příznaky, tzv. toxoinfekce

3. toxických metabolitů vyprodukovaných bakteriemi přímo v dané potravíně, které způsobují intoxikace.

Uvedené tři kategorie onemocnění jsou známé pod pojmem alimentární (lat. *alimentum* = potrava, výživa) infekce a intoxikace.

Původci onemocnění z mléka jsou tedy především bakterie a jejich toxiny, ale také viry, parazité, mikromycety a jejich toxiny. Někteří původci jsou významní již pouze z historického hlediska, jiní naopak nabývají na důležitosti s novými trendy ve výživě.

Stálá kontrola zdravotního stavu dojnic je velmi významným aspektem v prevenci chorob přenášených mlékem, např. brucelózy, Q horečky, salmonelózy, stafylokokových a streptokokových infekcí, slintavky a kulhavky. Původci uvedených onemocnění se do mléka mohou dostat přímo z vemene nebo nepřímo kontaminací mléka sekrety a exkrekty zvířat, často zcela klinicky zdravých. Úspěch kontroly onemocnění z mléka spočívá zejména v udržování zdravého vemene dojnic s využitím antimastitidních programů citlivě zvolených pro konkrétní stádo. Vnější prostředí může představovat významný zdroj kontaminace mléka či mléčných produktů v různé fázi získávání a zpracování mléka, např. patogeny přenášené vzduchem – streptokoky skupiny A, *Corynebacterium diphtheriae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Coxiella burnetti* a některé viry způsobující respirační onemocnění. A v neposlední řadě také ošetřovatelé zvířat a osoby manipulující s mlékem mohou být zdrojem např. salmonel, stafylokoků, streptokoků, kontaminace je možná rukama či sekrety horních cest dýchacích a dutiny ústní (Le Jeune et Rajala-Schultz, 2009).

Původce onemocnění z mléka je možno rozdělit z hlediska jejich významnosti ve vztahu k této komoditě, což ovšem nemusí být platné všeobecně. Např. dva závažní původci onemocnění z mléka (*Brucella* spp. a *Mycobacterium bovis*) zde byli zařazeni mezi historicky významné, ačkoliv v řadě zemí celosvětově stále představují značné riziko pro konzumenty nepasterizovaného mléka a výrobků z něj vyrobených. V Československu bylo v 60. letech během relativně krátkého období uskutečněno vymýcení obou závažných chorob, brucelózy (1964) a bovinní tuberkulózy (1968). Tím jsme se v ochraně zdraví zvířat a lidí zařadili mezi přední státy světa. Pro porovnání, ozdravovací proces v Dánsku trval více než 40 let, ve Švýcarsku 25 let a v řadě států Evropy nebyl dosud ukončen (Pavlas, 2008).

## 2.2.1 Historicky významná onemocnění z mléka

### 2.2.1.1 Brucelóza

Brucelóza je celosvětově rozšířené, vysoce nakažlivé onemocnění, jehož původcem jsou bakterie rodu *Brucella*. Brucely jsou malé, nepohyblivé, gramnegativní aerobní kokobacily, které jsou fakultativně intracelulární, a tedy jsou schopné přežít i v buňkách imunitního systému hostitele. Brucelóza je primárně onemocnění zvířat přenosné na člověka, projevující se kolísavými teplotami, záněty pohlavních žláz a potraty u březích samic (Foster et al., 2007; Khan et Zahoor, 2018). *Brucella* spp. je velmi odolná a patří mezi vysoce riziková biologická agens. Jako taková byla v minulosti dokonce několikrát zvažována jako vhodný kandidát k vývoji biologických zbraní a podle *National Institute of Allergy and Infectious Diseases* je řazena do kategorie B jako potenciální bioteroristický patogen (Hoover et Friedlander, 2007).

Pro člověka jsou dosud popsány čtyři patogenní druhy *Brucella melitensis*, *B. suis*, *B. abortus* a *B. canis* (**Tabulka 3**), přičemž onemocnění u lidí vyvolává nejčastěji *B. melitensis* a *B. abortus*. Nelze však vyloučit ani infekce vyvolané dalšími zástupci rodu.

**Tabulka 3** Hostitelská specifita zástupců rodu *Brucella*

Druh	Primární hostitel	Patogenita pro člověka
<i>B. suis</i>	prase*	vysoká
<i>B. melitensis</i>	malí přežvýkavci	vysoká
<i>B. abortus</i>	skot, bizon	střední
<i>B. canis</i>	pes	střední
<i>B. ovis</i>	ovce	není popsána
<i>B. neotomae</i>	hlodavci	není popsána
<i>B. pinnipedialis</i>	tuleni	potenciál být patogenní
<i>B. ceti</i>	velryby, delfíni	potenciál být patogenní

\* u nás ojedinělé případy brucelózy zajíců způsobené biovarem 2  
Upraveno podle: Foster et al. (2007); Hoover et Friedlander (2007)

Člověk se nakazí od nemocných zvířat, buď přímým kontaktem s nimi, nebo prostřednictvím jejich sekretů a exkretů. Brucelóza je velmi nebezpečné alimentární onemocnění, jehož typickým zdrojem je právě syrové mléko infikovaných zvířat a mléčné výrobky z něj vyrobené. Další možností nakažení je vdechnutí infikovaného prachu. Přenos z člověka na člověka je podle WHO považován za málo pravděpodobný.

Inkubační doba se pohybuje v průměru od 1 do 8 týdnů. Brucelóza může probíhat jako nevýrazné onemocnění podobné chřipce provázené horečkou, bolestmi svalů a kloubů. U mužů jsou popisovány záněty varlat a nadvarlat, u žen poruchy plodnosti a u těhotných žen může dojít k potratu. Přibližně u 70 % případů jsou popisovány žaludeční a střevní komplikace, nechutenství, příp. zvracení. U neléčených případů může být mortalita až 5 %. Mnoho neléčených případů přejde do chronické formy s přetrvávající zvýšenou teplotou, celkovou únavou a bolestmi svalů a kloubů (Köse et al., 2014).

Ačkoliv je ČR zemí prostou brucelózy, je třeba s ohledem na odlišnou nálezovou situaci v některých zemích, mít toto onemocnění na paměti jak při ochraně našeho území (veterinárně-hygienická opatření při dovozech, sérologický monitoring), tak při cestování. Brucelóza se endemicky vyskytuje ve více než 80 zemích světa a představuje vážné ohrožení nejen zvířat, ale též zdraví lidí. Za oblasti s nejvyšším výskytem jsou považovány země severní Afriky a Blízkého a Středního Východu (Mantur et al., 2007; Khan et Zahoor, 2018).

Podle WHO je brucelóza označována za jednu z nejvýznamnějších a současně nejvíce opomíjených zoonóz na světě. Zatímco hlavní snahou rozvinutých zemí je zůstat brucelózy prostí, v celé řadě rozvojových zemí stále hrozí reálné riziko kontaminace mléčných produktů a následné ohrožení spotřebitelů. K uvedenému se v poslední době přidružuje i další faktor, tj. zvýšený zájem o konzumaci syrových produktů včetně mléka, a to nejen kravského, ale i mléka kozího, ovčího, velbloudího a jiných druhů, a otevírání dalších možných rizik přenosu brucelózy (Dadar et al., 2019).

### **2.2.1.2 Zoonotická tuberkulóza**

Tuberkulóza (**TB**) je chronické onemocnění lidí i zvířat, jehož původci patří do komplexu *Mycobacterium tuberculosis* (**MTBC**). Onemocnění, kterým je lidstvo sužováno odnepaměti, představuje i v současnosti závažný celosvětový problém, zejména v rozvojových zemích. Odhaduje se, že přibližně třetina lidské populace je infikována, z toho 80 % obyvatelstvo rozvojových zemí.

Zástupci MTBC (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. caprae* a další) jsou aerobní, fakultativně intracelulární, pomalu rostoucí tyčinky, jejichž buněčná stěna je bohatá na lipidy, což zajišťuje vysokou odolnost vůči nepříznivým podmínkám prostředí.

Většina případů TB u lidí je vyvolána *M. tuberculosis* (humánní TB). Zoonotická TB je vyvolána druhem *M. bovis*. Vzhledem k tomu, že jsou od sebe klinicky, radiologicky i patologicko-anatomicky nerozlišitelné (Grange, 2001), uvádí se, že podíl případů zoonotické

TB je pravděpodobně podhodnocen. V rozvinutých zemích představují případy zoonotické TB relativně malý podíl (0,5 – 7,2 %) ze všech potvrzených případů TB (de la Rua-Domenech, 2006).

Například Hlavsa et al. (2008) uvádí, že podíl zoonotické TB v USA je 1 – 2 % ze všech případů TB. V jiných regionech a komunitách však může být situace zcela odlišná. Ve velké epidemiologické studii, prováděné v období 2003 – 2011 v Kalifornii byl prokázán vyšší výskyt zoonotické TB u obyvatel patřících k hispánskému etniku a u lidí s cukrovkou a dalšími imunosupresivními chorobami v porovnání s humánní TB (Gallivan et al., 2015). V této studii bylo zjištěno, že případy zoonotické TB tvořily 4 % (742 případů) z celkového počtu případů TB (n = 18 752).

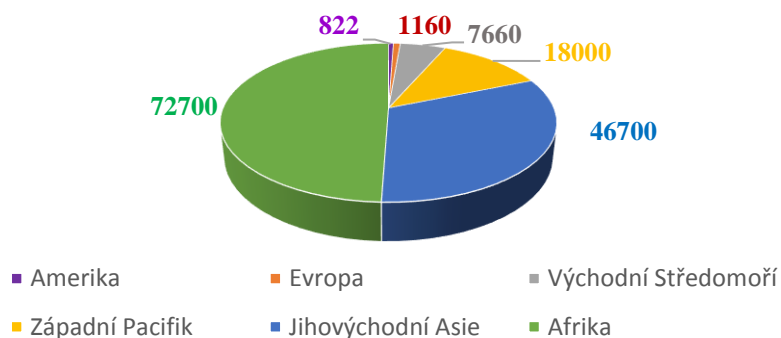
Hlavní cestou přenosu *M. bovis* je konzumace kontaminovaného syrového mléka a výrobků z něj. Méně často může dojít k přenosu konzumací syrového nebo nedostatečně tepelně upraveného masa. Podobně, jako v případě *M. tuberculosis*, je i u *M. bovis* možná cesta aerogenního přenosu, a to jak z infikovaných zvířat, tak mezi lidmi (Cosivi et al., 1998; Grange, 2001; de la Rua-Domenech, 2006).

Klinický obraz TB zahrnuje únavu, úbytek tělesné hmotnosti, kašel, noční pocení, event. další příznaky dle postiženého orgánu. Vzhledem k typické cestě nakažení u zoonotické TB, bývá častěji lokalizována extrapulmonárně (Cosivi et al., 1998).

Ve vyspělých zemích byla TB vyvolaná *M. bovis*, a tedy i incidence onemocnění zvířat i lidí, výrazně redukována díky eliminačním programům a pasterizaci mléka.

V rozvojových zemích, kde metody tlumení nejsou praktikovány či pouze zřídka, je však toto onemocnění stále široce rozšířeným problémem (Cosivi et al., 1998). Za rok 2016 uvádí WHO 147 tisíc nových případů zoonotické TB celosvětově (**Graf 1**) a 12,5 tisíc úmrtí v důsledku této nemoci.

**Graf 1 Rozložení nových případů zoonotické tuberkulózy za rok 2016 dle oblastí světa (n = 147 042), upraveno podle: WHO (2017)**





## 2.2.2 Nejčastěji zjišťovaná onemocnění z mléka

Z údajů Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA; *European Food Safety Authority*) vyplývá, že v letech 2009-2015 bylo v Evropě u 79 výskytů alimentárních onemocnění zdrojem nakažení mléko (**Tabulka 4**). Za nejčastěji se vyskytující alimentární nákazy jsou dlouhodobě potvrzovány kampylobakterióza a salmonelóza, a tento trend odpovídá i v případě onemocnění z mléka. V souvislosti s mlékem i mléčnými výrobky bývá každoročně hlášeno několik případů otrav způsobených stafylokokovými enterotoxiny. Je třeba poznamenat, že řada z těchto onemocnění (kampylobakterióza, stafylokoková enterotoxikóza) má relativně rychlý průběh a řadí se mezi tzv. samoúzdravná onemocnění. Z těchto důvodů mnoho proběhlých případů zůstává neodhaleno a celkové počty, podobně jako i např. u toxoinfekcí způsobených *Bacillus cereus*, jsou s největší pravděpodobností podhodnocené (Ehling-Schulz et al., 2004). V některých případech lze předpokládat, že zdroj nakažení a/nebo původce zůstane neodhalen.

Nejvyšší počet hlášených výskytů tvořila v letech 2009-2015 kampylobakterióza (**Tabulka 4**), a rovněž průměrný počet postižených na jeden výskyt (43,8 osob) byl u této nemoci nejvyšší. Pro porovnání, v případě salmonelózy byl průměrný počet postižených na jeden výskyt nižší (6,2 osob), avšak průměrný počet hospitalizovaných na jeden výskyt byl oproti kampylobakterióze téměř trojnásobný (4,2 vs. 1,6 osob). Nejvyšší počet postižených byl hlášen u gastroenteritidy vyvolané *Escherichia coli*, kde na pouhé dva výskyty bylo hlášeno 65 postižených osob.

**Tabulka 4 Počty hlášených výskytů onemocnění z mléka v letech 2009 – 2015 v rámci Evropy**

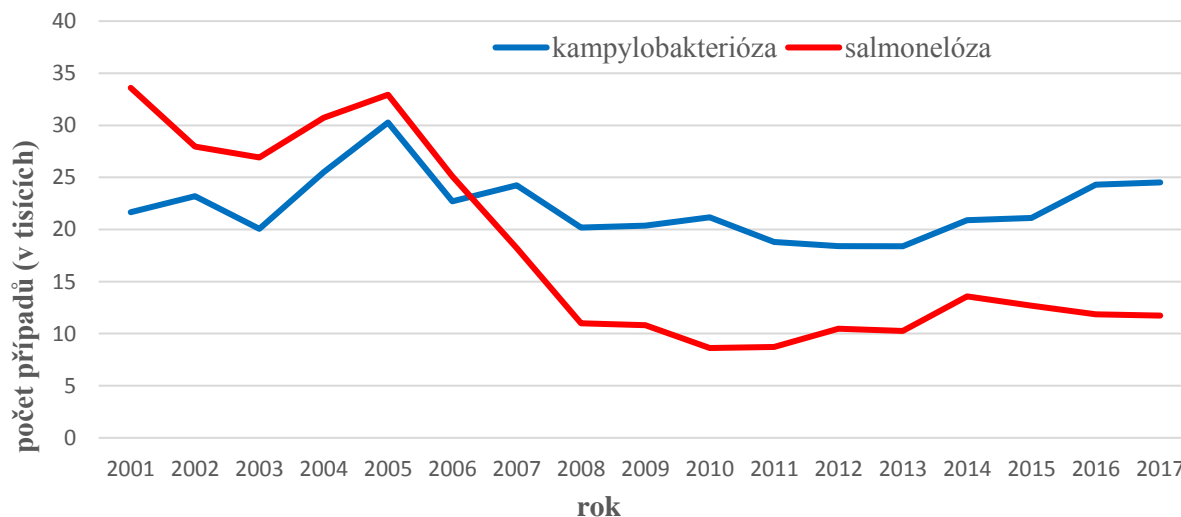
Příčina onemocnění	Výskytů	Postižených		Hospitalizovaných	
		<i>n</i>	$\bar{x}$	<i>n</i>	$\bar{x}$
<i>Campylobacter</i>	36	459	43,8	58	1,6
<i>Salmonella</i>	13	81	6,2	55	4,2
Stafylokokové enterotoxiny	9	65	7,2	10	1,1
<i>Flavivirus</i>	7	24	3,4	23*	3,3
<i>Bacillus</i>	5	58	11,6	24	4,8
<i>Escherichia coli</i>	2	65	32,5	10	5,0
Původce neurčen	7	140	20,0	28	4,0
<b>Celkem</b>	79	892	11,3	208	2,6

\* z toho 2 úmrtí; upraveno podle: EFSA (2019)

Za varující lze označit výskyt několika epidemií klišťové meningoencefalitidy v souvislosti s konzumací syrového mléka, většinou kozího (Hudopisk et al., 2013). Hospitalizace u nemocných osob bývá často nevyhnutelná a v některých případech např. u oslabených osob může toto onemocnění končit dokonce fatálně. Zjištěná mortalita u případů nakažení z mléka ve sledovaném období 2009-2015 byla 8,3 %.

Systém hlášení infekčních onemocnění i vyhledávání případů se může v jednotlivých zemích lišit. Na našem území patří kampylobakteriόza, salmonelόza, listeriόza a další alimentární onemocnění k povinně hlášeným podle vyhlášky č. 473/2008 Sb., o systému epidemiologické bdělosti pro vybrané infekce. Tato vyhláška upravuje shromažd'ování údajů a jejich hlášení, epidemiologická šetření při podezření na nákazu a protiepidemická opatření v ohnisku nákazy. Na druhou stranu v některých zemích probíhá hlášení např. pouze u hospitalizovaných případů onemocnění. Možná z těchto důvodů má ČR 5x vyšší hlášené počty případů salmonelόzy a 4x vyšší v případě kampylobakteriόzy v porovnání s hlášenými případy v celé Evropské unii (EU). Vysoké počty hlášených případů na našem území (**Graf 2**) jsou především výsledkem aktivního systému sledování uvedených nálezů a ČR se pravděpodobně od ostatních států EU ve skutečných počtech příliš neliší (Špačková, 2018).

**Graf 2 Počet případů onemocnění kampylobakteriόzou a salmonelόzou v letech 2010 – 2017 na našem území**



Upraveno podle: SZÚ (2019)

V roce 2016 byl v USA ve spojení s mlékárenským průmyslem označen jako nejčastější původce onemocnění *Campylobacter* spp. (7 výskytů, 57 postižených, 5 hospitalizovaných). Za původce, který zapříčinil nejvyšší počet hospitalizovaných osob, byla označena *Salmonella* spp. (4 výskyty, 138 postižených, 23 hospitalizovaných) a nejvyšší počet úmrtí způsobila *Listeria monocytogenes* (1 výskyt, 10 postižených, 9 hospitalizovaných, 2 úmrtí) (CDC, 2016).

Následující text je zaměřen na popis nejčastějších příčin onemocnění z mléka. Ostatní původci, kteří jsou častěji spojováni s jinými surovinami a potravinami či jinými způsoby přenosu, jsou součástí zmíněné kapitoly ve vědecké monografii – viz Přílohy.

### **2.2.2.1 *Kampylobakteriόza***

Rod *Campylobacter* zahrnuje více než 30 zástupců, z nichž 12 bylo dokonce popsáno v posledních deseti letech (LPSN, 2019). Jedná se o gramnegativní, většinou spirálovité či zakřivené tyčinky. Většina druhů je pohyblivá díky polárnímu bičíku na jednom nebo obou pólech bakteriální buňky (Altekruse et al., 1999; Hochel, 2009). Z hlediska alimentárních infekcí je nejvýznamnější *Campylobacter jejuni*, vyvolávající akutní průjmové onemocnění, kampylobakteriόzu, jejíž klinické projevy jsou podobné salmonelóze. Tento původce je izolován celosvětově ze stolice 5 - 35 % osob stížených průjmovým onemocněním.

Zdrojem nakažení je především drůbeží maso, ačkoliv *C. jejuni* lze prokázat i v dalších surovinách a potravinách živočišného původu, včetně syrového mléka. Výskyt *C. jejuni* v prostředí mléčných farem je označován za ubikvitární vzhledem k tomu, že bývá častým komenzálem střeva skotu (Humphrey et al., 2007). Humphrey et Beckett (1987) zjistili incidenci vylučování v rozpětí 10 – 70 % v 10 z 12 vyšetřovaných stád dojeného skotu. V jiné studii byla incidence 0 – 10 % (Harvey et al., 2004). Frekvencí vylučování *C. jejuni* výkaly se zabývali Rapp et al. (2019) ve dvou stádech dojeného skotu během 12 měsíců. Prokázali značné rozdíly mezi jednotlivými zvířaty, některá vylučovala chronicky, některá pouze sporadicky. Kálmán et al. (2000) popsali při epidemii v Maďarsku jako zdroj původce kampylobakteriόzy fekální kontaminaci syrového mléka. Kromě *C. jejuni* izolovali v mléce i *C. coli*. Za významnou lze označit schopnost *C. jejuni* formovat biofilmy, což může zapříčinit trvalou kontaminaci mléka z dojícího zařízení (Reuter et al., 2010).

*C. jejuni* je uváděn i jako jeden z možných původců mastitid skotu (Morgan et al., 1985) a infekci mléčné žlázy jako možný zdroj *C. jejuni* zvažovali ve své studii i Bianchini et al. (2014). Na kontaminaci mléka kampylobaktery se mohou podílet také divocí ptáci, kteří

sehrávají při jejich šíření i mezi farmami značnou roli (Sippy et al., 2012). Naproti tomu Bianchini et al. (2014) nepotvrdili, že by ptáci, konkrétně holubi, byli zdrojem kontaminace mléka kampylobaktery.

V několika studiích byl *C. jejuni* v různé míře izolován z bazénových vzorků mléka: 0,4 – 1,5 % (Oliver et al., 2005), 3,8 – 8,1 % (Stanley et Jones, 2003), 12 % (Bianchini et al., 2014), 27,3 % (Yang et al., 2003). Pro *C. jejuni* je minimální růstová teplota 32 °C. Při dodržování chladírenské teploty při skladování a distribuci mléka dochází k různě výraznému snížení koncentrace *C. jejuni*, v závislosti na daném kmenu. Redukce o jeden log CFU/ml v syrovém mléce při 4 °C je popisována v čase za 1,25 dní, ale u některých kmenů i za více než 14 dní (Hudson et al., 2014).

Kampylobakterióza je charakterizována gastroenteritidou provázenou průjmem, horečkou a křečemi v břiše. V posledních deseti letech patří *C. jejuni* k nejčastěji prokazovaným původcům alimentárních nákaz nejen v rozvojových zemích, ale také ve vyspělých zemích Evropy a USA, přičemž u několika epidemií této choroby bylo zdrojem nepasterizované mléko. Davis et al. (2016) popsali nedávnou epidemii v Utahu, která postihla 99 osob. U většiny nemocných byla jako zdroj nákazy odhalena konzumace syrového mléka ze stejného zdroje. Všichni nemocní vykazovali příznaky typické pro toto onemocnění – průjem (100 % případů), krvavý průjem (42 %), bolesti břicha (77 %), horečka (63 %), nevolnost (49 %) a zvracení (43 %). Jedna osoba v důsledku multiorgánového selhání zemřela.

V ČR počet ročně hlášených případů kampylobakteriózy dokonce vysoko převyšuje dříve nejčastější alimentární nákazu, salmonelózu. Jako zdroj kampylobakteriózy však u nás nebylo potvrzeno mléko ani mléčné výrobky. V rámci Evropy byly za poslední období nejvýraznější epidemie kampylobakteriózy ve spojitosti s mlékem hlášeny v Německu (EFSA, 2019).

Ačkoliv je výskyt kampylobakteriózy celosvětový, přesné údaje s ohledem k odlišnostem jednotlivých zemí z hlediska dostupnosti lékařské péče, laboratorního vyšetření i rozdílch v evidenci a hlášení, nejsou spolehlivě k dispozici (Hochel, 2009).

### **2.2.2.2 Salmonelóza**

*Salmonella* spp. je důležitým zoonotickým patogenem s celosvětovým významem. Surové mléko i výrobky z něj (např. měkké sýry) mohou být salmonelami kontaminovány. Nejčastější příčinou výskytu salmonel v mléce bývá sekundární kontaminace v průběhu dojení, po nadojení nebo v průběhu zpracování mléka.

Rezervoárem salmonel v prvovýrobě jsou zvířecí bacilonosiči (hospodářská a volně žijící zvířata), méně často lidé. Dojnice mohou vylučovat salmonely do mléka v akutní fázi onemocnění (Linam et Gerber, 2007).

Jedním z nejčastěji izolovaných sérotypů ze syrového mléka a výrobků z něj vyrobených je *S. enterica* Typhimurium (**Tabulka 5**).

**Tabulka 5 Sérotypy *Salmonella enterica* izolované ze syrového mléka a mléčných výrobků ze syrového mléka**

Sérotyp	Zdroj	Oblast	Citace
Dublin	mléko	USA	CDC (1984)
Typhimurium DT104*	sýr	USA	Vilar et al. (1999)
Typhimurium DT104*	sýr	USA	Cody et al. (1999)
Typhimurium	sýr	Francie	De Valk et al. (2000)
Typhimurium	mléko	USA	CDC (2003)
Typhimurium	mléko, sýr	USA	CDC (2007)
Newport	sýr	USA	CDC (2008)
Montevideo	sýr	Francie	Dominguez et al. (2009)
Enteritidis (33,3 %)			
Typhimurium (25,9 %)			
Heidelberg (14,8 %)	mléko, sýr	Egypt	El-Baz et al. (2017)
Infantis (11,11 %)			
Tsevie (11,11 %)			
Haifa (3,8 %)			

\* multirezistentní

Klinické příznaky salmonelózy zahrnují průjem, křeče v břiše, nevolnost, zvracení, horečku a bolest hlavy. Ve stolici může být přítomna krev.

V ČR představuje mléko a mléčné výrobky z hlediska onemocnění salmonelózou jen malé riziko vzhledem k dobré hygieně získávání mléka, omezení možnosti sekundární kontaminace a uchovávání mléka za nízkých teplot.

### 2.2.2.3 Stafylokoková enterotoxikóza

Stafylokoková enterotoxikóza patří mezi jednu z nejběžněji zjišťovaných intoxikací ve spojitosti s konzumací potravin. Původcem této otravy jsou enterotoxigenní kmeny *Staphylococcus aureus* (SA). Tato fakultativně anaerobní, nesporulující bakterie tvaru koků běžně osidluje lidské i zvířecí hostitele.

Je popsáno pět podmínek vzniku stafylokokové enterotoxikózy (Hennekinne et al., 2012):

1. Zdroj, který obsahuje enterotoxigenní SA – např. lidský nebo zvířecí přenašeč

2. Přenos SA ze zdroje do potravin – typicky k němu dochází při nehygienickém zacházení, nedostatečné zchlazení potravin navíc podporuje růst a stimuluje produkci toxinů.
3. Výhodné složení potravin tj. vhodné fyzikálně-chemické vlastnosti, které podporují růst bakterií a produkci toxinů (**Tabulka 6**). Je známo, že SA je např. schopen růstu v širším rozmezí vodní aktivity oproti jiným potravinovým patogenům. Ačkoliv optimální vodní aktivita je  $\geq 0,99$ , SA je schopen růstu i produkce toxinů při nižších hodnotách a vyšším zastoupení NaCl v prostředí.
4. Příznivá teplota a dostatečný čas pro růst i produkci toxinů.
5. Pozření potravin obsahující dostatečné množství toxinů k vyvolání příznaků otravy.

**Tabulka 6 Faktory ovlivňující růst a produkci enterotoxinů *Staphylococcus aureus***

Faktor	BAKTERIÁLNÍ RŮST		TOXINOGENEZE	
	optimum	rozpětí	optimum	rozpětí
Teplota ( $^{\circ}C$ )	37	7 - 48	37 - 45	10 - 45
pH	6 - 7	4 - 10	7 - 8	4 - 9,6
Vodní aktivita	0,98	0,99 - 0,83	0,98	0,99 - 0,85
NaCl (%)	0	0 - 20	0	0 - 10
Redox potenciál (mV)	> +200	< -200 až > +200	> +200	< -100 až > +200

Zdroj: Tatini (1973)

Zdrojem enterotoxigenních SA v mléce a mléčných výrobcích může být mastitida této etiologie. SA je uváděn jako jeden z hlavních původců mastitid u skotu (Dufour et al., 2012). Dalším zdrojem může být kapénková infekce, kontaminace z prostředí např. z povrchu vemene nebo z hnisavých poranění na rukou dojičů (Sattar et al., 2001).

Schopnost v adekvátních podmínkách produkovat stafylokokové enterotoxiny (**SE**) je uváděna asi u 50 – 75 % kmenů SA. V současnosti je známo více než 20 SE (označených písmeny A až V), ovšem za hlavní příčinu stafylokokové enterotoxikózy jsou považovány tyto hlavní: A, B, C1, C2, C3, D a E (Argudín et al., 2010). SE mohou být produkovány jednotlivě i v kombinacích. Je u nich popisována značná odolnost k různým podmínkám prostředí, např. jsou odolné k sušení, mražení a k nízkému pH. Rovněž jsou odolné k účinku proteolytických enzymů a zachovávají si tedy svoji aktivitu i při průchodu trávicím traktem (Bergdoll, 1989; Hennekinne et al., 2012). Uvádí se, že tepelná ošetření, běžně užívaná pro potraviny, nejsou účinná ke zničení SE, pokud jejich obsah v potravine odpovídá množství, které může vyvolat otravu, tj. 0,5 – 10  $\mu\text{g}/100\text{ ml}$  nebo 100 g (Bergdoll, 1989).

Lidský organismus je k účinkům SE velmi citlivý, příznaky otravy se objevují po požití přibližně  $0,4 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  hmotnosti jedince za 30 min – 8 hodin (průměrně za 3 hodiny). Enterotoxiny vyvolávají nevolnost, zrychlení střevní peristaltiky a průjem a v důsledku podráždění emetického centra CNS zvracení. Dalšími běžně uváděnými příznaky jsou abdominální bolest, závratě a celková slabost, někdy spojené s mírnou horečkou. Ve většině případů dochází k upravení klinického stavu i bez léčby během 24 - 48 hodin (Loir et al., 2003).

Přesto, že úmrtí je u této otravy popisováno jako zcela raritní, u osob, které jsou velmi citlivé k dehydrataci, jako jsou kojenci a staří lidé, nebo při souběžně probíhajícím jiném onemocnění, k němu může dojít. Šestnáct případů úmrtí při hromadné stafylokokové intoxikaci (4 tisíce postižených) zdokumentovali Do Carmo et al. (2004).

V syrovém kravském mléce byl prokázán v různých průzkumech 4 – 12% výskyt toxigenních kmenů, vyšší procento bylo zjištěno u izolátů z akutních mastitid (Jičínská et al., 1995). Peles et al. (2007) potvrdili u 27 % izolátů SA, pocházejících ze vzorků mastitidního mléka ze 14 maďarských farem, schopnost produkovat enterotoxiny.

#### **2.2.2.4 Emetický a diarhogenní syndrom vyvolaný *Bacillus cereus***

Rod *Bacillus* zahrnuje okolo 300 zástupců (LPSN, 2019), z nichž většina je považována za nepatogenní a mnoho z nich je dokonce pro své schopnosti využíváno v zemědělství a ve farmaceutickém průmyslu. Z lékařského hlediska se za významný a obávaný považuje původce antraxu *B. anthracis*, a dále původce alimentárních otrav, *B. cereus*. Výskyt zástupců tohoto rodu je v prostředí ubikvitární, jsou aerobní nebo fakultativně anaerobní, grampozitivní a mají schopnost tvořit velmi odolné endospory (Ehling-Schulz et al., 2004; Arnesen et al., 2008; Gopal et al., 2015).

Široké rozšíření *B. cereus* v prostředí a schopnost produkovat vysoce odolné endospory jsou důvody velmi časté kontaminace potravin touto bakterií. *B. cereus* je navíc běžnou součástí střevního mikrobiomu u některých druhů živočichů a s různou intenzitou je prokazován i ve stolici některých lidí (Arnesen et al., 2008).

Uvádí se, že *B. cereus* je zodpovědný za přibližně 5 % epidemií z potravin ve Velké Británii, Nizozemí, Francii a USA (Rosenquist et al., 2005). Skutečné počty však mohou být, vzhledem k podobnosti s jinými alimentárními onemocněními, poněkud podhodnocené (Ehling-Schulz et al., 2004).

*B. cereus* je častým kontaminantem mléka. Hlavním zdrojem kontaminace jsou struky znečištěné podestýlkou, výkaly, zeminou apod., krmivo a dojící zařízení obsahující spory této

bakterie (Svensson et al., 2006). Ty ve vhodných teplotních podmínkách klíčí, přičemž pasterační teploty tento děj aktivují. Ošetření mléka **UHT** (angl. *ultra-high temperature processing*) spory ničí. *B. cereus* může vyvolávat dva druhy onemocnění – alimentární intoxikaci tzv. emetický syndrom a toxoinfekci - diarhogenní syndrom (Granum, 2001).

Emetický syndrom (*emesis* = zvracení) je vyvolán konzumací potraviny obsahující emetický toxin (cereulid). Je to polypeptid odolný k vysoké teplotě (121°C po 90 min) a proteolytickým enzymům, s aktivitou v rozmezí pH 2 – 11 (Rajkovic et al., 2008). Uvedené vlastnosti zajišťují jeho aktivitu po průchodu trávicím traktem i po tepelném ošetření. Většina případů otrav cereulidem byla spojena s rýží a pokrmy z ní, ale i s dalšími potravinami jako jsou těstoviny, vařená zelenina aj. Agata et al. (2002) experimentálně posuzovali produkci cereulidu v různých potravinách. Prokázali pouze nepatrnou produkci cereulidu ve vejcích, mase a masných výrobcích a v neprovzdušněném mléce. Nicméně, v provzdušňovaném mléce byla zjištěna vysoká produkce toxinu. Kmeny *B. cereus* produkující cereulid jsou, na rozdíl od diarhogenních psychrotolerantních kmenů, mezofilní a pod 10 °C nerostou. Minimální teplota pro produkci cereulidu byla stanovena na 12 °C, při teplotách nad 40 °C již k produkci toxinu nedochází (Finlay et al., 2000). Svensson et al. (2006) zjišťovali přítomnost emetický toxin produkujících kmenů na mléčných farmách (vzorky mléka a prostředí) a v mlékárnách ve Švédsku. Prokázali nízký počet (1,9 %) izolátů produkujících emetický toxin v prostředí farem i v mléce. Rovněž prevalence těchto izolátů ve vzorcích mléka z mlékáren byla velmi nízká (0,05 %). V jednom mléčném tanku zjistili přítomnost emetický toxin produkujícího kmene, který kolonizoval prostředí. Tento nálezn označili jednak jako podnět k dalšímu výzkumu, ale i k lepší sanitaci zařízení mlékáren, zejména ve vztahu k produkci sušeného mléka např. pro dětskou výživu.

Zvracení, jakožto hlavní klinický symptom otravy cereulidem, se dostavuje spolu s nevolností za 0,5 – 6 hodin po konzumaci. Příznaky poté během 24 hodin spontánně odeznívají (Schoeni, 2005).

Diarhogenní syndrom (*diarrhoea* = průjem) je vyvolán nejméně třemi termolabilními enterotoxiny (hemolysin BL, nehemolytický enterotoxin a cytotoxin K), které jsou produkovány při množení *B. cereus* přímo *in situ* v tenkém střevě (Clavel et al., 2004). Diarhogenní toxiny jsou citlivé k záhřevu i proteázám. Diarhogenními kmeny mohou být kontaminovány různé potraviny, včetně mléka a výrobků z něj. Hlavní příznaky zahrnující abdominální křeče a vodnatý průjem, se objevují za 8 – 16 hodin po konzumaci dané potraviny, poté během 12 – 24 hodin spontánně ustupují (Ehling-Schulz et al., 2004).



Minimální množství schopné vyvolat oba typy onemocnění bylo stanoveno na  $10^5 - 10^8$  CFU/g potravin (Granum, 2001). Ovšem podle některých studií k vyvolání emetického syndromu postačuje i  $10^3$  CFU/g (Kramer et Golbert, 1989).

Pro mléko představují z hlediska alimentárních otrav riziko primárně diarhogenní kmeny *B. cereus*. Přítomnost spor emetický toxin produkujících kmenů v množství 1000/litr mléka nemusí být dle Svensson et al. (2006) nutně považována za rizikovou, pokud je mléko udržováno při chladničkové teplotě. Naproti tomu stejné množství spor diarhogenních kmenů by vzhledem k jejich psychrotrofní povaze mohlo představovat problém z hlediska udržení kvality pasterizovaného mléka.

### **2.2.2.5 Gastroenteritida vyvolaná *Escherichia coli***

Gramnegativní bakterie *Escherichia coli* je součástí běžného střevního mikrobiomu lidí i zvířat. Patogenní kmeny, vyvolávající onemocnění, se rozlišují dle mechanismu působení do 6 skupin, z nichž nejzávažnější jsou **STEC** (shigatoxigenní kmeny), které produkují Shiga toxiny 1 a 2. Existuje cca 250 sérotypů, z nichž až 40 % je vysoce virulentních pro člověka, u něhož vyvolávají hemoragickou kolitidu a v některých případech i život ohrožující hemolyticko-uremický syndrom (**HUS**). Kmeny, které tato onemocnění způsobují, se označují jako **EHEC** (enterohemoragické) a jsou podskupinou STEC. Pro EHEC je charakteristická nízká infekční dávka (u některých sérotypů pouze 10 – 100 bakterií). Nejznámějším sérotypem je O157:H7, z dalších lze jmenovat O26, O111, O103 a O145. V ČR je nejčastější O26:H11, O157:H7 a O111 (Karch et al., 2005).

Rezervoárem EHEC *E. coli* je skot a další domácí i volně žijící přežvýkavci, kdy latentní nosiči i nemocní jedinci vylučují původce výkaly do prostředí.

Přenos je nejčastěji cestou alimentární. Zdrojem nakažení může být syrové či nedostatečně tepelně opracované maso, dále nepasterované mléko a výrobky z tohoto mléka. Kontaminované maso a nepasterizované mléko jsou považovány za hlavní cesty, kterými se patogen dostává do potravinového řetězce. Zelenina a ovoce ošetřené chlévskou mrvou mohou představovat další zdroj infekce. Nebezpečí kontaminované vody spočívá v jejím snadném šíření i na velké vzdálenosti a mezi mnoho lidí.

Při nedodržování základních pravidel hygieny je možný přenos z člověka na člověka a ze zvířete na člověka.

Ke kontaminaci mléka dochází prostřednictvím výkalů či jiného substrátu obsahujícího bakterie. Další možností je uvolnění bakterií do mléka z mléčné žlázy stížená zánětem této

etiologie. Voda může představovat další zdroj kontaminace a to jak během dojení, tak při dalším zpracování mléka.

Po typické inkubační době 3 – 4 dny se objevuje vodnatý průjem provázený bolestí břicha. Tyto příznaky trvají 1 – 3 dny. Během následujících dní se vodnatý průjem mění u 90 % případů na krvavý. Horečka obvykle chybí. U 5 – 7 % případů dochází k závažné komplikaci v podobě HUS, který je hlavní příčinou akutního renálního selhání u dětí.

Záchyt EHEC infekcí v ČR je nízký. Od roku 2006 bylo Národní referenční laboratoří pro *E. coli* a shigely potvrzeno 25 případů. Všechny se týkaly dětí do pěti let věku. Příčinu nízkého záchytu EHEC infekcí lze spatřovat mj. v tom, že většina mikrobiologických laboratoří neprovádí diagnostiku EHEC *E. coli* rutinně u všech případů krvavých průjmů.

I přes relativně nízký počet hlášených případů na našem území, je význam EHEC infekcí v ochraně veřejného zdraví velký, z důvodu nebezpečí systémových komplikací a jejich pozdních následků, a dále v možnosti vyvolat rozsáhlé epidemie (Marejková et al., 2011).

### 2.2.2.6 Listerióza

*Listeria monocytogenes* je patogenní intracelulární bakterie, která může zapříčinit onemocnění označované jako listerióza, typicky u osob imunosuprimovaných, u nejmladší a naopak nejstarší věkové kategorie, za velmi rizikovou skupinu jsou pak považovány těhotné ženy (**Tabulka 7**). U většiny dospělých zdravých jedinců probíhá infekce *L. monocytogenes* bez klinických příznaků onemocnění.

**Tabulka 7 Příklady prevalence listeriózy v závislosti na fyziologickém a zdravotním stavu**

Skupina	Počet případů/100 tisíc obyvatel/rok
Zdravá dospělá populace	0,7
Lidé nad 70 let věku	2
Alkoholici	5
Diabetici	5
Těhotné ženy	12
Onkologičtí pacienti	15
Pacienti s AIDS	600
Pacienti s leukémií	1000

Upraveno podle: Hof (2003)

Rozšíření *L. monocytogenes* v přírodě je ubikvitární, včetně bezpříznakového výskytu ve střevě zvířat a lidí (až 20 % bezpříznakových přenašečů), a tedy kontaminace surovin a potravin, zvláště s přihlédnutím ke značné odolnosti bakterie i k nízkým (chladničkovým) teplotním podmínkám, je častým jevem. Typickým zdrojem listerií pro hospodářská zvířata, a s tím související i následná kontaminace mléka, jsou nedostatečně prokysané siláže, v nichž se původce výrazně pomnoží (Jančová et Škapová, 2007).

V současné době je *L. monocytogenes* považována za obávaného kontaminanta surovin a potravin živočišného původu. Mezi nejrizikovější patří maso a tepelně neopracované masné výrobky, dále syrové mléko a některé mléčné výrobky a v neposlední řadě syrová zelenina.

Klinický obraz onemocnění u rizikových skupin obyvatelstva se promítá od nespecifických klinických příznaků, přes septikémie a záněty mozkových blan. Těhotné ženy jsou k infekci mnohem (až 20x) vnímavější než netěhotné zdravé ženy. Infekce, při níž *L. monocytogenes* proniká přes placentu, může mít za následek potrat, předčasný porod nebo infekci novorozence. Raná infekce, ke které dochází obvykle ve třetím trimestru, se projevuje krátce po narození jako septikemické onemocnění s vysokou (30 – 60 %) úmrtností. Pokud dojde k infekci v průběhu porodu, klinické příznaky se objevují později a jsou obrazem meningitidy. Pozdní infekce má úmrtnost 10 – 20 % (Jančová et Škapová, 2007).

Listerióza je příčinou přibližně 0,5 až 1 % všech hromadných alimentárních infekcí, avšak její mortalita je oproti ostatním alimentárním infekcím výrazně vyšší, někteří autoři uvádějí přes 20 %, jiní přes 30 % (Hof, 2003).

Zatímco riziko kontaminace mléka v prvovýrobě lze eliminovat vhodnou prevencí (sanitace prostředí, kvalitní krmiva, hygiena dojení, ošetření mléka po nadojení), složitějším problémem zůstává její eliminace z prostředí zpracovatelských závodů. *L. monocytogenes* má totiž mimořádnou, dosud blíže neobjasněnou schopnost kolonizovat technické prostředí. Většina izolátů pocházela z prostor chladíren, transportérů a odvodňovacích zařízení, což pravděpodobně umožňuje i šíření listerií v závodech. Vzhledem k schopnosti listerií pomnožovat se při vysokých koncentracích NaCl, mohou být zdrojem kontaminace i solné lázně (Melo et al., 2015).

### **2.2.3 Prevence onemocnění z mléka**

Prevence onemocnění z mléka zůstává jedním z nejdůležitějších problémů ochrany veřejného zdraví. Zahrnuje jednotlivá opatření, zajišťující mikrobiální nezávadnost mléka

a následně i výrobků z něj vyrobených. Zdrojem mikrobiální kontaminace mléka může být dojnice, prostředí, ve kterém probíhá získávání a další manipulace s mlékem, i člověk. Preventivní kroky proto musí postihovat všechny tyto, tzv. kritické body při současném zohlednění znalostí o jednotlivých původcích onemocnění z mléka (Le Jeune et Rajala-Schultz, 2009).

Ze základních preventivních kroků lze uvést:

1. *Dojnice.* Udržování dobrého zdravotního stavu dojnic včetně volby vhodného antimastitidního programu pro konkrétní stádo. Zvířatům zkrmovat kvalitní, nezaplísňená krmiva a napájet pitnou vodou.
2. *Prostředí.* Udržovat hygienu prostředí – ustájení, prostory pro získávání, uchování a zpracování mléka atd.
3. *Člověk.* S mlékem nesmějí manipulovat osoby s klinickým onemocněním a bacilonosiči. Všechna hnisavá poranění kůže musí být ošetřena a je doporučováno použití ochranných rukavic.

Ošetření mléka pasterizací je dosud nejefektivnějším kontrolním opatřením zabraňujícím přenosu patogenů na člověka. Systematické review zaměřené na infekce spojené s konzumací syrového mléka poukazuje na to, že pasterizované mléko je mnohem bezpečnější než mléko syrové a je srovnatelně výživné. Není tudíž žádné vědecky podložené opodstatnění proč preferovat mléko syrové (Leedom, 2006).

Přestože eliminace některých chorob skotu přenášených mlékem a soustavné zlepšování hygieny získávání a ošetřování mléka redukuje rizika kontaminace mléka, riziko přenosu onemocnění z mléka nelze zcela vyloučit a nemělo by být podceňováno.

#### **2.2.4 Ekonomický význam onemocnění z potravin**

Pozornost věnovaná trvalému snižování výskytu alimentárních původců v potravinovém řetězci má význam nejen z hlediska ochrany lidského zdraví, ale rovněž z hlediska nákladů, které řešení alimentárních onemocnění a případně i jejich trvalých následků, představuje.

Ekonomický dopad alimentárních onemocnění je pro společnost ohromující. Na úrovni potravinářských podniků pak může být pro mnohé i likvidační (Hussain et Dawson, 2013). V USA byly roční náklady na nejběžněji se vyskytující alimentární nemoci odhadnuty za rok 1993 v rozmezí 5,6 – 9,4 mld. dolarů (Busby et Roberts, 1995). Hoffman et al. (2012)

vyhodnotili náklady vynaložené na onemocnění způsobená 14 nejčastějšími alimentárními původci na 14 mld. dolarů (v rozpětí 4,4 – 33,0 mld.). Tvrdí, že přibližně 90 % z uvedených nákladů je způsobeno pěti původci – netyfoidní *Salmonella enterica* (3,3 mld.), *Campylobacter* spp. (1,7 mld.), *Listeria monocytogenes* (2,6 mld.), *Toxoplasma gondii* (3 mld.) a norovirus (2 mld.).

Ve většině studií byly do celkových nákladů zahrnovány především náklady na léčbu a hospitalizaci, označované jako přímé náklady, a dále náklady v souvislosti s pracovní neschopností, event. předčasným úmrtím (nepřímé náklady) (McLinden et al., 2014). Abe et al. (2002) do analýzy nákladů na jednu epidemii gastroenteritidy *E. coli* O157:H7 zohlednili i další náklady, např. na laboratorní analýzy a epidemiologická šetření, nebo ztráty v důsledku pozastavení činnosti stravovacího zařízení. Přes skutečnost, že hospitalizováno bylo pouze deset osob, označili autoři ve své studii jako velmi podstatnou položku náklady na hospitalizaci. Celkové náklady na léčbu jsou tudíž výrazně ovlivněny počtem hospitalizovaných osob, neboť léčba, která je nezbytná pro tyto vážné případy, je obvykle velmi nákladná.

Jednotlivé případy onemocnění se mohou svou závažností a následně i ekonomickými následky výrazně odlišovat ve škále od krátkodobých epizod, přes dlouhotrvající, vyžadující hospitalizaci až po taková, která způsobují trvalé následky či dokonce smrt (Havelaar et al., 2000). Rozdělení případů onemocnění dle závažnosti u onemocnění shiga toxin produkující *E. coli* O157 ukázalo, že roční náklady na 71312 případů onemocnění bez nutnosti hospitalizace byly 7,5 mil. dolarů, zatímco roční náklady na 2107 případů s nutnou hospitalizací tvořily 71,1 mil. dolarů (**Tabulka 8**). Uvedený propočtení je proveden souhrnně pro všechna onemocnění *E. coli* O157 ze všech zdrojů (za rok 1997 v USA). Podle odhadů *Centers for Disease Control and Prevention* v USA 85 % všech infekcí *E. coli* O157 pochází z potravin (ostatními zdroji je voda, přenos mezi lidmi a ze zvířat). Náklady na alimentárně vyvolané případy tedy tvořily podíl okolo 344 mil. dolarů (Frenzen, 2007).

Odhady ročních nákladů vynaložených na řešení vybraných alimentárních onemocnění se zabývalo několik studií. Oliver et al. (2005) určili náklady pro rok 2000 v USA takto (v dolarech): 1,2 mld. na kampylobakteriózu, 2,4 mld. na netyfoidní salmonelózy, 0,7 mld. na onemocnění *E. coli* O157:H7 a za onemocnění způsobené *Listeria monocytogenes* 2,3 mld. Scott et al. (2000) odhadli na Novém Zélandu počet alimentárních onemocnění na téměř 120 tisíc za rok. Z celkových nákladů, které činily 55 mil. dolarů, tvořily největší položku

nepřímé ztráty v důsledku pracovní neschopnosti (48 mil. dolarů). Za nejnákladnější onemocnění označili ve své studii kampylobakteriózu.

**Tabulka 8** Roční náklady spojené s onemocněním shiga toxin produkující *Escherichia coli* O157 rozdělené dle závažnosti onemocnění

Závažnost onemocnění	Počet případů onemocnění	Celkové náklady (milionů \$)	Průměrné náklady na jeden případ (\$)
<i>Bez hospitalizace:</i>			
- bez návštěvy lékaře	57656	1,5	26
- s návštěvou lékaře	13656	6,0	441
<i>S hospitalizací:</i>			
- bez HUS	1797	10,1	5599
- s HUS, bez selhání ledvin	300	9,3	30998
- s HUS, se selháním ledvin	10	51,7	5173594
<i>Smrtelné případy:</i>			
- bez HUS	23	92,0	3998265
- s HUS	38	234,7	6175500
Celkem	73480	405,2	

HUS – hemolyticko-uremický syndrom, \$ - americký dolar; Upraveno dle Frenzen et al. (2005); Frenzen (2007)

Scharff et al. (2009) upozornili na skutečnost, že většina dostupných studií je zaměřena pouze na malý počet nejběžnějších původců alimentárních onemocnění, a tedy poskytuje zhodnocení jen přibližně 4 mil. z celkového počtu 76 mil. případů alimentárních onemocnění. Výsledkem je značné podhodnocení celkových ekonomických nákladů. V jejich studii navrhovaný model využívá komplexnější škálu patogenů, náklady na hospitalizaci specifikuje dle patogenů a rovněž zohledňuje případnou ztrátu kvality života. Objem ročních nákladů na alimentární onemocnění ve státě Ohio je dle jejich odhadů v rozpětí 1 – 7,1 mld. dolarů, což odpovídá nákladům na jednotlivce 91 – 624 dolarů.

Studie posuzující dopady alimentárních onemocnění na ekonomiku ať již na úrovni konkrétního podniku nebo na celostátní úrovni jsou velmi hodnotné. Mohou např. sloužit k vyhodnocení účinnosti stávajících či zavedení nových opatření k zajištění bezpečnosti potravinového řetězce. Ekonomické analýzy potvrzují, že pro producenty je mnohem levnější investovat do preventivních opatření k předcházení vzniku ohnisek alimentárních onemocnění než řešit jejich výskyt. Kromě zřejmých finančních ztrát může producent ohrozit reputaci svou i svých odběratelů a v neposlední řadě také ztratit důvěru zákazníků (Ribera et al., 2012).

## 3 KOMENTOVANÁ ČÁST HABILITAČNÍ PRÁCE

### 3.1 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ PROFIL FA MLÉČNÉHO TUKU

Jak již bylo uvedeno v literárním přehledu, význam FA z hlediska nutričního, ale i zdravotního je značný. Z těchto důvodů se velká většina prací zabývá problematikou, jak ovlivnit profil FA mléčného tuku. K tomuto tématu se vztahují i publikace, které tvoří základ této kapitoly.

#### ***Publikace vztahující se k dané problematice:***

Hanuš, O., Samková, E., Křížová, L., Hasoňová, L., Kala, R. Role of fatty acids in milk fat and the influence of selected factors on their variability – A review. *Molecules*, 2018, 1636, 23, 1-32.

Samková, E., Koubová, J., Hasoňová, L., Hanuš, O., Kala, R., Kváč, M., Pelikánová, T., Špička, J. Joint effects of breed, parity, month of lactation, and cow individuality on the milk fatty acids composition. *Mljekarstvo*, 2018, 68, 98-107.

Kala, R., Samková, E., Koubová, J., Hasoňová, L., Kváč, M., Pelikánová, T., Špička, J., Hanuš, O. Nutritionally desirable fatty acids including CLA of cow's milk fat explained by animal and feed factors. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 2018, 66, 69-76.

Samotným účelem změn profilu FA mléčného tuku je zvýšení prospěšných FA buď s pozitivním účinkem na lidské zdraví, nebo zlepšujících technologické vlastnosti finálních produktů. To se neobejde bez důkladných studií zaměřených na zdravotní přínos jednotlivých FA, ale také studií zaměřených na faktory ovlivňující profil FA a jejich vzájemné vztahy. Realizaci žádoucích změn pak bezesporu umožňuje výrazný pokrok v oblasti analytických metod a technologických postupů.

Problematika složení mléčného tuku je poměrně často diskutovaným a nesmírně obsáhlým tématem. Faktory, které ovlivňují zastoupení jednotlivých FA a skupin FA jsou tradičně rozlišovány na faktory biologické (angl. *animal factors*; tedy na straně zvířete či jinak vnitřní faktory) a faktory vnější. Výživa, která patří bezpochyby k nejčastěji studovaným vnějším faktorům (např. Ferlay et al., 2006, 2010; Craninx et al., 2008; Palladino et al., 2010), je nejvýznamnějším a současně nejefektivněji využitelným nástrojem pro modifikaci profilu FA mléčného tuku. Z biologických faktorů lze jmenovat plemennou příslušnost, individualitu a vliv

laktace – stadia a pořadí (např. Kelsey et al., 2003; Soyeurt et al., 2006, 2007; Mele et al., 2007, 2009; Craninx et al., 2008).

Obě skupiny faktorů, vnitřní i vnější, se vzájemně různou měrou ovlivňují. Jejich komplexní vnímání v návaznosti na znalosti fyziologických hledisek, jako je funkce bachoru, syntéza tuku v mléčné žláze či energetický status jedince, je jak pro výzkum, tak pro praktické využití zcela klíčové. O tom svědčí i snahy o využití profilu FA mléčného tuku jakožto ukazatele zdravotního stavu, zejména subklinických metabolických poruch a reprodukční výkonnosti (Bastin et al., 2011; Gross et al., 2011).

Nedávno byla také popsána zajímavá spojitost mezi v bachoru syntetizovanými FA, produkcí metanu a obsahy FA v mléčném tuku a nyní je studována možnost predikce tvorby metanu založené právě na obsazích FA v mléce (Lassen et al., 2016; Vanrobays et al., 2016). Otázky zátěže planety nadměrnou produkcí metanu jsou dnes nadmíru aktuální vzhledem k tomu, že chov dobytka bude mít i nadále stoupající tendenci jako odpověď na trvalý růst lidské populace. Současně s tím je třeba řešit možnosti zlepšování, resp. dnes možná vhodnějšího termínu nezhoršování životního prostředí lidskou činností a též neopomenutelné ekonomické ziskovosti výroby mléka.

Vzhledem k šíři problematiky vnitřních a vnějších faktorů ovlivňujících profil FA, je následující text zaměřen pouze na vlivy laktace a je koncipován jako shrnutí podstatných zjištění z článků, příp. doplnění nových informací. Ostatní vnitřní a vnější faktory jsou podrobně diskutovány v příložené rešeršní studii (Hanuš et al., 2018).

### **3.1.1 Vliv laktace a energetického statusu dojnic na profil FA mléčného tuku**

#### **3.1.1.1 Vliv stadia laktace**

Stadium laktace společně s energetickou bilancí organismu dojnice ovlivňují profil FA mléčného tuku. Změny v zastoupení FA v průběhu laktace, především na jejím začátku, jsou podmíněny odlišným podílem FA dle původu, tj. z krmiva, *de novo* syntézou v mléčné žláze, biohydrogenací v bachoru a mobilizací tělního tuku (Kay et al., 2005; Mulligan et al., 2006; Stoop et al., 2009; Gross et al., 2011).

Laktaci jako takovou je možno z hlediska mobilizace tukových rezerv charakterizovat střídajícími se cykly lipolýzy a lipogeneze, které zajišťují energetické požadavky na sekreci



mléka a vývoj plodu. Zvýšené energetické požadavky jsou typické především pro tranzitní období (Roche et al., 2009; Arfuso et al., 2016), ve kterém se odehrávají výrazné změny metabolických drah (Piccione et al., 2011) charakterizované fyziologickou mobilizací zásob tělních tuků, proteinů a minerálních látek (Van Dorland et al., 2009).

V období těsně okolo porodu, ale i během prvního stadia laktace se výrazně zvyšuje aktivita mléčné žlázy, což vede k energetickému deficitu, zvýšené lipomobilizaci a intenzivní ketogenezi a lipogenezi v játrech (Samanc et al., 2010). Dojnice, ale i jiné druhy laktujících zvířat se proto na začátku laktace obvykle nacházejí ve stavu NEB (Walsh et al., 2011), přibližně během prvních 30 dní (Lake et al., 2007), v některých případech dokonce 70 či více dní po porodu (Roche et al., 2009). Vzhledem k tomu, že funkce mléčné žlázy má metabolickou prioritu, jsou omezeně dostupné živiny při NEB přednostně využívány k syntéze mléka k zajištění přežití potomstva (Useni et al., 2018). Tělní rezervy (tuky a v menší míře proteiny) jsou mobilizovány (Van Knegsel et al., 2005) prostřednictvím homeostatické regulace (Roche et al., 2009; Thatcher et al., 2011). Mobilizace tělních rezerv má za následek pokles živé hmotnosti a zhoršení tělesného kondičního skóre (**BCS**; angl. *body condition score*) (Jorritsma et al., 2003; Grummer et al., 2004; Van Straten et al., 2008) jako fyziologický mechanismus nezbytný k překonání vzniklého energetického deficitu. V důsledku toho jsou NEFA uvolňovány z tělních tukových rezerv, čímž se zvyšuje jejich hladina v krvi jakožto projev NEB (Wathes et al., 2007a).

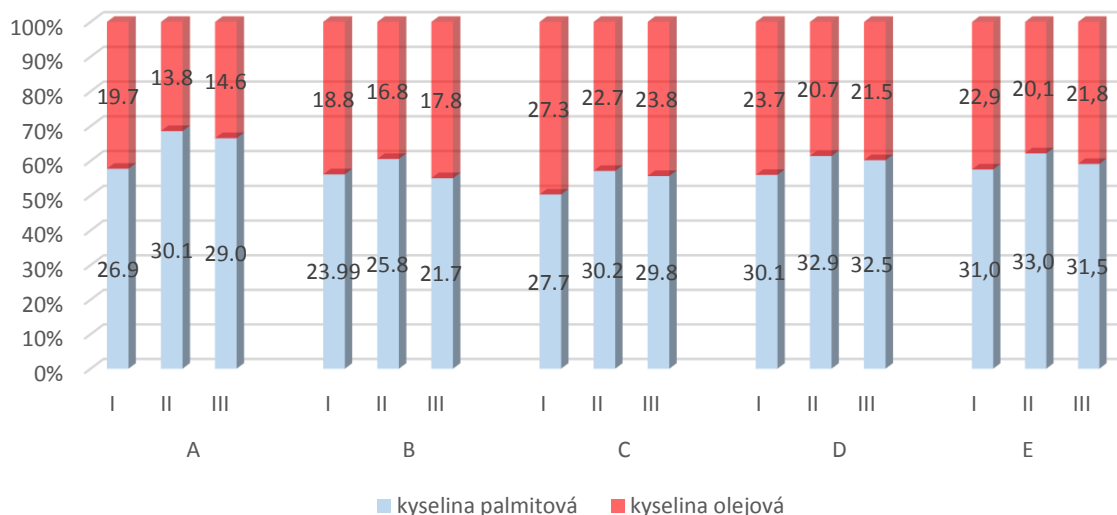
NEFA metabolity jednak putují do mléčné žlázy a slouží jako zdroj pro syntézu TAG a rovněž jsou využívány v játrech (Drackley, 1999; Vernon, 2005; Schulz et al., 2014; Useni et al., 2018).

Začátek laktace lze označit za nejnáročnější období jak z hlediska energetického statusu, tak z hlediska řízení zdraví celého stáda (Walsh et al., 2011; Fiore et al., 2015; Vranković et al., 2017; Useni et al., 2018). Vysoká utilizace energetických rezerv v tomto období se následně odráží v obsahu mléčného tuku (Bauman et al., 2006), v profilu FA a ve vzájemných poměrech jednotlivých skupin FA (Stádník et al., 2013). Obecné schéma lze popsat takto: zvýšený přísun FA s dlouhým řetězcem z krve do mléčné žlázy ovlivňuje *de novo* syntézu FA inhibicí acetyl-CoA karboxylázy (Palmquist et al., 1993). Proto podíl SFA, především kyseliny palmitové, je v prvním týdnu po porodu nejnižší a poté se přibližně do 12. týdne po porodu spolu se zlepšující se energetickou bilancí zvyšuje. Na druhé straně podíl MUFA, zastoupených především kyselinou olejovou, které prudce vzrůstají se zahájením mobilizace tukové tkáně po porodu (Laakso et al., 1996), se do 12. týdne po porodu snižuje (Palmquist et al., 1993; Kay et al., 2005;

Garnsworthy et al., 2006; Stoop et al., 2009; Gross et al., 2011). K podobným výsledkům jsme dospěli i v naší studii (Samková et al., 2018; Graf 3).

Čas potřebný na stabilizaci složení mléčného tuku je závislý na množství zásobního tuku, produkci mléčného tuku, energetické bilanci a množství tuku v krmivu (Palmquist, 2006).

**Graf 3 Zastoupení (% všech FA) kyselin palmitové a olejové na začátku (I), uprostřed (II) a na konci (III) laktace**



A – Garnsworthy et al., 2006, B – Mele et al., 2009, C – Wang et al., 2013, D – Gottardo et al., 2017, E – Samková et al., 2018

Kyselina olejová, převažující FA v adipocytech, je primárně uvolňována lipolýzou při NEB (Rukkwamsuk et al., 2000; Tyburczy et al., 2008). Bylo prokázáno, že adipocyty dojníc s vysokou genetickou hodnotou jsou k lipolýze citlivější (Smith a McNamara, 1990). Podle Van Haelst et al. (2008) je zvýšený podíl kyseliny olejové v mléčném tuku vhodným ukazatelem NEB nejen na začátku laktace, ale v jakémkoliv stadiu laktace, pokud dochází k hladovění a vzniku ketózy. Uvedené bylo potvrzeno studií, ve které byla NEB vyvolána restrikcí krmiva a zjištěné změny FA profilu odpovídaly podobnému schématu jako v případě NEB na počátku laktace. Konkrétně se v průběhu NEB snížil podíl SCFA a naopak došlo k vzestupu množství LCFA. Podíl PUFA byl relativně konstantní jak v případě postpartální, tak v případě restrikcí krmiva indukované NEB (Gross et al., 2011).

Se zlepšením energetické bilance s postupující laktací nebo zvýšením příjmu krmiva po jeho restrikci, se profil FA výrazně mění (Gross et al., 2011). Významně vyšší podíl SFA, popsany okolo 150. dne po porodu, je dáván do souvislosti s pokročilou laktací (Vranković et

al., 2017), kdy se zvířata již nenacházejí v energetickém deficitu. Podobně nižší podíl MUFA okolo 150. dne po porodu indikuje dobře vybalancovaný příjem energie dojnícemi (Stádník et al., 2013). Některé studie navrhují možnost využití hodnot FA v mléce, zejména LCFA, coby indikátorů energetického statusu dojnic (Van Haelst et al., 2008; Gross et al., 2011; Vranković et al., 2017).

Na základě výše zmíněných údajů je zřejmé, že složení mléčného tuku je primárně odrazem rozdílné utilizace tukových tělních zásob. BCS je v této souvislosti užitečným nástrojem pro posouzení energetického statusu dojnic. BCS může hrát roli v regulaci apetitu a příjmu krmiva, a tím ovlivňovat mléčnou produkci i složení mléka. Optimální BCS při porodu je 3,0 až 3,25; zatímco nižší je spojeno se sníženou mléčnou užitkovostí,  $BCS \geq 3,5$  je spojeno se sníženým příjmem sušiny, což má za následek pokles mléčné užitkovosti a zvýšené riziko metabolických poruch (Roche et al., 2009). BCS při porodu pozitivně koreluje se složkami mléčného tuku, které vznikají z tukové tkáně, tj. LCFA a UFA. Naopak negativně koreluje s SCFA, které jsou syntetizovány z bachorového acetátu (Pedron et al., 1993; Pires et al., 2013).

### **3.1.1.2 Vliv pořadí laktace**

Metabolický status dojnic je rovněž ovlivněn pořadím laktace (Pineyrua et al., 2018), ačkoliv studie se v této oblasti poněkud různí. Některé uvádějí, že prvotelky mají větší tělesné rezervy (tedy BCS) v pospartálním období než dojnice na vyšších laktacích (Roche et al., 2009; Pineyrua et al., 2018). Podle jiných studií mají naopak prvotelky na začátku laktace nižší BCS a větší tendenci k jeho poklesu oproti dojnícím na vyšších laktacích (Meikle et al., 2004; Cavestany et al., 2005). Wathes et al. (2007a) nezjistili žádný rozdíl v BCS v závislosti na pořadí laktace.

Lze se domnívat, že vzhledem k vysokým energetickým nárokům na dokončování tělesného růstu investují prvotelky méně ze svých tělních rezerv do produkce mléka v porovnání se staršími dojnícemi (Wathes et al., 2007b). Vrchol koncentrace NEFA se u prvotetek objevuje ve 4. týdnu po porodu, zatímco starší dojnice mají dva vrcholy – jeden v prvním týdnu a druhý ve 4. týdnu po porodu. Dojnice na vyšších laktacích vykazují výraznější NEB s delším trváním v porovnání s prvotelkami (Pineyrua et al., 2018).

Lake et al. (2007) uvedl, že mezi prvotelkami a staršími dojnícemi jsou v proporcích FA rozdíly, kdy prvotelky mají nutričně výhodnější složení.

### **3.1.1.3 Zdravotní hledisko profilu FA ve vztahu k laktaci**

Při hodnocení složení mléčného tuku z pohledu nutriční a zdravotní prospěšnosti, je opakovaně prokazováno, že výhodnější profil FA je na začátku laktace, tj. mezi 10. a 30. dnem po porodu. Tři FA (laurová, myristová a palmitová), které jsou často označovány jako HFA, jsou na začátku laktace zastoupeny nejnižším podílem a s vývojem laktace se jejich množství zvyšuje (Williams, 2000). Podobných výsledků bylo dosaženo i v naší studii, ve které byl zjištěn nižší podíl kyseliny palmitové a FA C4-14 na začátku laktace (27,7, resp. 22,6 %) v porovnání s pozdějším obdobím (33,3, resp. 26,6 %) (**Kala et al., 2018**).

Naopak kyselina olejová a LA, které jsou považovány za FA s kardioprotektivními účinky, jsou zastoupeny na začátku laktace ve větším množství (Gross et al., 2011). V naší studii bylo mezi 10. a 30. dnem laktace prokázáno vyšší zastoupení kyseliny olejové (23,4 %), LA (1,99 %), MUFA (26,5 %) a PUFA n-6 (2,27 %) v porovnání s pozdějším obdobím laktace, tj. mezi 211. a 240. dnem (17,2 %, 1,48 %, 21,0 %, resp. 1,75 %) (**Kala et al., 2018**).

Další zdraví prospěšnou FA je RA (Belury, 2002), která tvoří 75 – 90 % ze všech izomerů CLA (Kramer et al., 1998). Podle některých studií má stadium laktace na obsah RA jen malý vliv (Kelsey et al., 2003), jiné studie uvádějí zvyšující se podíl RA v pozdní laktaci (Auld et al., 1998; Samková et al., 2012). Elevace RA na konci laktace byla potvrzena i naší studií (**Kala et al., 2018**).

V naší studii byly potvrzeny signifikantní rozdíly v zastoupení FA mezi prvotelkami a staršími dojnícemi (**Samková et al., 2018**). Rovněž byla porovnána skupina dojnic na druhé laktaci a dojnic na vyšších ( $\geq 3$ ) laktacích. S výjimkou ALA však nebyly zjištěny statistické rozdíly v obsazích FA mléčného tuku. Podle dříve publikovaných studií (např. Lake et al., 2007; Artegoitia et al., 2013) mají prvotelky nutričně i zdravotně výhodnější zastoupení FA, s nižším podílem SFA a vyšším podílem UFA a RA. Podstatou této skutečnosti mohou být výše zmíněné rozdíly v kontrole tkáňové mobilizace mezi prvotelkami a staršími dojnícemi (Wathes et al., 2007b). Jak tělesný vývoj, tak vývoj mléčné žlázy není u prvotelek v období po porodu dosud dokončen, což může vést k nižší produkci mléka a zvýšené utilizaci FA jak z krmiva, tak z tělních rezerv. Miller et al. (2006) uvádějí, že aktivita enzymu FA syntázy v mléčné žláze prvotelek je v první třetině laktace nízká, přičemž aktivity obvyklé u dojnic na vyšších laktacích je dosahováno teprve v poslední třetině laktace.

### 3.1.1.4 Zhodnocení podílu faktorů na variabilitě FA mléčného tuku

Při hodnocení studií, které jsou základem kapitoly 3.1, a to zejména původních vědeckých publikací (Kala et al., 2018; Samková et al., 2018) je třeba vyzdvihnout zaměření na poměrně velké množství sledovaných faktorů.

Studie vysvětlují vzájemný podíl nejen jednotlivých biologických faktorů na variabilitu FA mléčného tuku (Samková et al., 2018), ale je zohledněn i vliv výživy (Kala et al., 2018). Pokud se týká biologických faktorů, konkrétně plemene, pořadí laktace, stadia laktace a vlivu individuality, tyto faktory vysvětlily variabilitu zastoupení FA v rozpětí od 28,2 % (u CLA) po 54,4 % (pro kyselinu palmitovou) (Tabulka 9).

**Tabulka 9 Podíly vysvětlených faktorů ovlivňujících zastoupení vybraných mastných kyselin (FA) a jejich skupin**

Zdroj	Druh	FA	R <sup>2</sup>	ε
Kala et al. (2018)	dojnice	C16:0	30	70
		CLA	52	48
		MUFA	30	70
Samkova et al. (2018)	dojnice	C16:0	54,4	45,6
		C18:0	40,8	59,2
		CLA	28,2	71,8
		SFA	46,8	53,2
		UFA	45,9	54,1
		MUFA	45,4	54,6
Kelsey et al. (2003)	dojnice	PUFA	39,2	60,8
		C16:0	9,8	90,2
		C18:0	30	70
Soják et al. (2013)	ovce	CLA	2,2	97,8
		C16:0	6,1	93,9
		C18:0	4,1	95,9
		CLA	8,3	91,7
		MUFA	17,6	82,4
		PUFA	10,9	89,1

SFA – nasycené FA; UFA – nenasycené FA; MUFA – monoenoové FA, PUFA – polyenoové FA; R<sup>2</sup> - koeficient determinace (podíl celkové vysvětlené variability); ε – podíl nevysvětlené variability

Kelsey et al. (2003) se rovněž věnovali vlivu biologických faktorů na profil FA, nicméně do svého modelu nezahrnuli významný faktor - individualitu dojnic. V naší studii (**Samková et al., 2018**) bylo prokázáno, že vliv individuality dojnic má na variabilitu jednotlivých FA i skupin FA zásadní podíl. Pro ilustraci, v případě kyseliny palmitové jsme zjistili podíl vlivu plemene 2 %, pořadí laktace 2 % a stadia laktace 9 %. Avšak podíl vlivu individuality byl 40 %. Podobné zastoupení faktorů bylo prokázáno i u dalších FA a skupin FA. Druhým biologickým faktorem, který vysvětloval největší podíl variability FA, bylo stadium laktace. Oproti tomu u zbývajících faktorů (plemeno a pořadí laktace) jsme zjistili relativně nízký podíl.

Další studie (**Kala et al., 2018**) se zabývala nejen vlivem biologických faktorů (plemeno, pořadí a stadium laktace), ale i výživy. Právě zahrnutí tohoto nejvýznamnějšího faktoru zajistilo zvýšení podílu vysvětlené variability např. u CLA až na 52 %.

Závěrem je možné konstatovat, že výše uvedenými faktory byla variabilita v zastoupení FA zjištěna často z více než 50 %, což lze u biologických faktorů označit za ojedinělé.

### 3.2 OD ZVÍŘETE K ČLOVĚKU ANEB RIZIKA V PRŮBĚHU POTRAVINOVÉHO, PŘEDEVŠÍM MLÉČNÉHO, ŘETĚZCE

Tato kapitola habilitační práce je rozdělena do tří částí: (1) *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, výskyt a možná role v potravinovém řetězci, (2) Zhodnocení výsledků kontrol kvality a bezpečnosti potravin v České republice a (3) Spotřebitel a jeho role z hlediska bezpečnosti potravin. Pro komplexní pojetí celé problematiky je rovněž doplněna pasáž zabývající se změnami, které bezprostředně souvisí s bezpečností potravinového řetězce.

#### ***Publikace vztahující se k dané problematice:***

- Hasonova, L., Trcka, I., Babak, V., Rozsypalova, Z., Pribylova, R., Pavlik, I. Distribution of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in tissues of naturally infected cattle as affected by age. *Veterinární Medicína*, 2009, 54, 257-269.
- Hasonova, L., Pavlik, I. Economic impact of paratuberculosis in dairy cattle herds: a review. *Veterinární Medicína*, 2006, 51, 193-211.
- Koubová, J., Samková, E., Hasoňová, L. Food fraud detection by Czech Agricultural and Food Inspection Authority in retail market. *British Food Journal*, 2018, 120, 930-938.
- Tunegová, M., Samková, E., Hasoňová, L., Klimešová, M., Marková, A., Kala, R., Toman, R. Occurrence of chemical contaminants in animal products during 1999 – 2016 in the Czech Republic. *British Food Journal*, 2018, 120, 2142-2154.
- Hasoňová, L., Samková, E., Vočadlova, K., Straková, K. Od Pasteura zpět? Aneb tepelné ošetření mléka a jeho význam. *Výživa a potraviny*, 2018, 5, 114-117.
- Hasoňová, L., Beerová, M., Samková, E., Klimešová, M., Kala, R. Změny v hodnotách celkového počtu mikroorganismů při skladování syrového kravského mléka. *Mlékařské listy*, 2017, 28, 1-3.
- Hasoňová, L., Beerová, M., Samková, E.: Chováme se k mléku správně? Průzkum spotřebitelského chování při zacházení se syrovým kravským mlékem. *Mlékařské listy*, 2016, 27, 13-18.

Kvalita a bezpečnost mléka může být prakticky napříč celým mléčným řetězcem (od dojnice po konzumenta) (**Obrázek 2**) ovlivněna biologickými, chemickými nebo fyzikálními faktory, které mohou mít nežádoucí zdravotní účinek. Podstatná část událostí spojených s ohrožením bezpečnosti potravin má však svůj původ na samém začátku, tj. v oblasti

prvovýroby. Ohrožení bezpečnosti potravin musí být přísně kontrolováno ve všech fázích mléčného řetězce a zejména ve fázi výroby krmiv a produkce mléka. Tato rizika v případě krmiv zahrnují možný obsah pesticidů, dioxinů, mykotoxinů a jiných cizorodých látek; dojnice mohou být léčeny a mléko může obsahovat rezidua veterinárních léčivých přípravků a dále mohou dojnice bez klinických příznaků být zdrojem patogenních mikroorganismů se zoonotickým potenciálem. Konsekvence ve vztahu k lidskému zdraví se týkají těch kontaminantů, které dosahují konečného produktu, což však zdaleka nejsou všechny.



**Obrázek 2 Diagram zajištění kvality a bezpečnosti napříč mléčným řetězcem od produkce po samotného konzumenta = komplexní provázaný systém**

Kvalitní a zdravotně nezávadné mléko může být pouze takové, které je vyprodukováno od zdravých, adekvátně živených zvířat v hygienicky (nad)standardních podmínkách s vhodně aplikovanými kontrolními strategiemi s cílem chránit zdraví lidí.

Požadavky na kvalitu a bezpečnost produkce jsou v jednotlivých zemích ukotveny v legislativních požadavcích. V rámci EU se prvovýrobě věnuje Nařízení Evropského Parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004, kterým se stanoví mimo jiné specifické hygienické předpisy pro potraviny živočišného původu. V tomto nařízení jsou uvedeny hygienické požadavky na výrobu syrového mléka, včetně požadavků na prostory a vybavení výroby, hygieny během dojení, sběru a přepravy, hygieny personálu. Dále se v nařízení uvádí, že syrové



mléko musí pocházet od zdravých zvířat a musí splňovat následující kritéria: celkový počet mikroorganismů (při 30 °C) ≤ 100 tisíc CFU/ml a počet somatických buněk ≤ 400 tisíc /ml.

Tato kritéria poskytují obraz o zdravotním stavu zvířat, kvalitě mléka, hygieně zacházení s ním, ale i o řízení celého podniku. Udržení vysokého hygienického standardu je v současnosti jedním z nejdůležitějších podmínek ekonomicky rentabilní produkce mléka. Mlékárny jej prosazují prostřednictvím trvalého zvyšování požadavků na kvalitu mléka. Nelze opomenout ani požadavky konzumenta, kterého dnes více než dříve zajímá bezpečnost mléka a také to, za jakých podmínek bylo vyprodukováno. Ovšem i řada zodpovědných producentů se svým přístupem snaží nejen udržet, ale i zvyšovat hygienickou úroveň a kvalitu své produkce, např. tím, že usilují o dosažení mnohem příznivějších hodnot výše zmíněných kritérií.

### **3.2.1 *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, výskyt a možná role v potravinovém řetězci**

#### **3.2.1.1 Vylučování MAP mlékem**

Pozornost je obecně věnována především patogenům, jež se do mléka dostávají během dojení, kontaminací z prostředí, z rukou dojičů atd. Ačkoliv je známo, že skot je rezervoárem různých komenzálních organismů, které jsou vylučovány do vnějšího prostředí výkaly, a které mohou za určitých okolností být vylučovány i mlékem, jejich výzkum je v porovnání se skupinou kontaminujících mikroorganismů náročnější. Ze skupiny primárních kontaminujících bakterií jsou ke studiu nejvhodnější původci mastitid skotu. Ve středu zájmu má své místo rovněž obávaná *Listeria monocytogenes*, u které bylo prokázáno, že u infikovaných zvířat obvykle nevyvolává klinické onemocnění, avšak může být vylučována mlékem. Jednou z bakterií, která již mnoho let vyvolává řadu otázek, a to zejména ve spojitosti s její dosud neobjasněnou rolí možného alimentárního původce je *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP).

V naší studii (Hasonova et al., 2009) jsme zjišťovali diseminaci MAP v jednotlivých orgánech dojeného skotu v různých věkových kategoriích. Naše práce byla výjimečná zejména tím, že zkoumaný soubor zvířat tvořilo celé jedno stádo skotu plemene Jersey, ve kterém byla opakovanými testy prokázána paratuberkulóza (dovoz původního stáda z Dánska), a které bylo v průběhu dvou týdnů poraženo. Žádné ze zvířat nejevilo klinické příznaky paratuberkulózy, což odpovídá i povaze této nákazy, pro kterou je dominantní subklinická forma. O diseminaci

MAP u subklinických jedinců je v porovnání s klinickými případy jen málo známo (Antognoli et al., 2008). Přitom tyto informace jsou velmi cenné pro pochopení nejen patogeneze nemoci, ale právě i rizik kontaminace živočišných produktů. Celkem bylo odebráno 1974 vzorků od 131 zvířat, včetně vzorků mléka, tkáně mléčné žlázy a mízní uzliny nadvemenní od 69 dojnic. Vzorky mléka byly odebrány jako čtvrtové (od 58 dojnic) a jako směsné ze všech čtvrtí (11 dojnic). Z těchto 69 dojnic bylo 33 (48 %) prokázáno MAP pozitivních.

Kultivační vyšetření vzorků mléka bylo v naší studii negativní. U dvou dojnic však byla zjištěna přítomnost MAP v mléčné žláze. V jednom případě se jednalo o silný nález (nad 30 CFU/vzorek) MAP přímo ve tkáni mléčné žlázy, přitom vylučování výkaly zjištěno nebylo. U druhé dojnice byl zjištěn slabý nález (pod 11 CFU) v mízní uzlině nadvemenní se současným slabým vylučováním původce výkaly. Sweeney et al. (1992a) se ve své studii zaměřili na kultivační vyšetření mléka (11,6 % pozitivních vzorků) a nadvemenních mízních uzlin (27 % pozitivních). Zjistili, že prevalence pozitivních vzorků byla nejvyšší u dojnic, které silně vylučovaly MAP ve výkalech. V naší studii jsme detekovali pouze jednu silnou vylučovatelku MAP výkaly.

Je několik dalších možných vysvětlení negativních výsledků kultivačního vyšetření mléka v naší studii. Především mnohem větší pravděpodobnost vylučování MAP mlékem byla potvrzena u klinicky nemocných dojnic (Sweeney a kol., 1992a; Stabel et al., 2014). U klinické formy je uváděna prevalence 45 % (Giese a Ahrens, 2000) oproti prevalenci 12 (Sweeney a kol., 1992a) a 22 % (Streeter a kol., 1995) u subklinické formy. Pro paratuberkulózu jsou ovšem typické hlavně subklinické případy (van Schaik a kol., 2003), které ve stádě převažují, jak se naší studií skutečně potvrdilo. Grant (2006) počítá na jeden klinický případ paratuberkulózy v infikovaném stádu 4 - 8 subklinických případů, které pravidelně vylučují MAP výkaly, popř. mlékem.

Corti et Stephan (2002) uvádějí, že vylučování MAP mlékem je, podobně jako vylučování výkaly, intermitentní. Stabel et al. (2014) zjistili, že klinicky i subklinicky nemocné dojnice vylučují živé zárodky MAP především na začátku laktace mlezivem a poté mlékem. Vylučování mlezivem představuje významnou cestu přenosu MAP na velmi vnímavá mláďata. Je uváděna 74% pravděpodobnost nakažení u mláďat do 6 měsíců věku, která poté klesá na 50 % u zvířat ve věku 6 – 12 měsíců a dále na 19,3 % u zvířat nad 12 měsíců (Windsor et Whittington, 2010).

Některé studie zmiňují nízké počty kultivovatelného MAP v syrovém mléce. Bradner et al. (2013) experimentálně ověřili detekční limit tří metod – pro kultivaci v tekutém médiu byl

limit méně než  $10^2$  CFU/ml a pro kultivaci na pevném médiu  $10^4$  CFU/ml. Proti tomu u přímé PCR byl detekční limit méně než 10 CFU/ml. Výhodou kultivačních metod je to, že podávají obraz o přítomnosti živých bakterií v mléce. Nevýhodou je zmíněný vyšší detekční práh, který je dán náročným zpracováním vzorků, zejména dekontaminačním procesem k likvidaci přidružených mikroorganismů. Uvádí se, že dekontaminace používaná u vzorků mléka je současně letální i pro část populace MAP (Dundee et al., 2001). Pozitivní výsledek PCR poskytuje více informací, protože může indikovat nejen celé buňky, ale i pouze jejich fragmenty. Podle Hines et al. (2014) mohou neživé, dokonce fragmentované MAP vyvolat po požití imunitní odezvu vedoucí v některých případech až k zánětlivým reakcím uvnitř hostitele. Výhodou PCR je rovněž to, že umožňuje získat výsledky velmi rychle oproti 12 týdnům potřebným pro kultivační vyšetření.

Kombinací obou jmenovaných faktorů, tj. formy onemocnění i detekční metody, využili Stabel et al. (2014), kteří prokazovali MAP v mléce klinických a subklinických dojnic třemi metodami (kultivace na pevném a v tekutém médiu, PCR). Zjistili velmi rozdílnou prevalenci jak v závislosti na metodě, tak na formě onemocnění: 12,9 % (kultivace na pevném médiu), 18,4 % (v tekutém médiu) a 49,2 % (PCR) u klinických a 3,8, 4,1 a 12,6 % u subklinických dojnic.

Vzhledem k tomu, že mléko nepředstavuje pro MAP přirozené prostředí, buňky MAP v něm mohou být přítomny jako L-formy, bez buněčné stěny. Detekce těchto, v nepříznivých podmínkách vznikajících forem, je pak velmi limitovaná (Beran a kol., 2006).

Přesný mechanismus, kterým MAP kontaminuje mléko, není dosud zcela objasněn (Slana et al., 2008a). Grant et al. (2001) uvádí, že MAP se do mléka může dostat přímo z mléčné žlázy infikovaných dojnic, nebo fekální kontaminací v průběhu dojení. Podle některých autorů je tento způsob kontaminace mléka dokonce pravděpodobnější (Weber a kol., 2005). Na riziko přímého vylučování do mléka by v naší studii mohl poukazovat průkaz původce v tkáni mléčné žlázy a nadvemenní mízní uzlině u dvou dojnic. Aseptický odběr vzorků mléka v naší studii eliminoval zmíněnou možnost sekundární kontaminace.

Negativní výsledky kultivačního vyšetření mléka byly získány i v jiném chovu, kde byly odebírány vzorky od devíti dojnic vylučujících MAP výkaly. Souběžně se provedlo vyšetření mléka metodou PCR s využitím dvou pro identifikaci MAP standardně používaných inzerčních sekvencí (IS900, F57). Pomocí obou technik bylo zjištěno stejných devět pozitivních vzorků mléka (Hasoňová, 2009). Negativní kultivační vyšetření MAP se současnou pozitivní PCR analýzou bylo prokázáno také v pasterizovaném mléce (Gao et al., 2002) a v mléčných

produktech např. v sýrech ze syrového mléka (Stephan et al., 2007) nebo v sušené kojenecké výživě (Hruska et al., 2005). Negativní výsledek kultivačních vyšetření v porovnání s často vysokým záchytem pozitivních výsledků molekulární analýzou je vysvětlován skutečností, že většina molekulárních metod nerozlišuje živé a mrtvé zárodky (Slana a kol., 2008a; Stabel et al., 2014).

### **3.2.1.2 Prevalence MAP v mléce a mléčných výrobcích**

Mléko je považováno za významné vehikulum, kterým může MAP vstupovat do potravinového řetězce. Ke kontaminaci mléka dochází pravděpodobně dvěma cestami (Mihajlovic et al., 2011). Jednak přímým vylučováním MAP do mléka, což je mnohem častější způsob u klinicky nemocných dojníc, které mohou vylučovat MAP v množství od < 100 CFU/ml až po více než 1000 CFU/ml mléka (Giese et Ahrens, 2000). Sweeney et al. (1992a) jako jediní provedli kvantifikaci vylučování MAP u subklinických dojníc na 2 - 8 CFU/50 ml mléka. Druhou cestou je kontaminace mléka fekálním materiálem, přičemž i velmi malé množství může zajistit kontaminaci syrového mléka vysokými počty bakterií vzhledem k tomu, že počet životaschopných bakterií u klinicky nemocného jedince je odhadován na  $10^5 - 10^6$  CFU/g a může dokonce přesahovat  $10^8$  CFU/g výkalů (Whittington et al., 2000). Prevalence MAP v syrovém mléce se v jednotlivých studiích různí v závislosti na použité detekční metodě (**Tabulka 10**). Podstatný vliv má prevalence paratuberkulózy ve stádě a výskyt klinicky nemocných jedinců (Nauta et van der Giessen, 1998).

Opakovaně bylo potvrzeno, že MAP přítomné v přirozeně infikovaném mléce přežívá pasterizaci, dokonce i při prodlouženém čase na 25 sec. (Grant a kol., 2001, 2002, 2005).

Ve studii prováděné v USA zjistili Ellingson et al. (2005) přítomnost životaschopných buněk MAP v 2,8 % (20 vzorků z celkem 702) vzorků mléka ze supermarketů v Kalifornii, Minnesotě a ve Wisconsinu. Podobné výsledky měla i studie v ČR (Ayele et al., 2005), v níž bylo životaschopné MAP detekováno u 1,6 % (4/244) vzorků komerčně pasterizovaného (71,7 °C /15 sec.) mléka pocházejícího z několika supermarketů a dále ve 2 % (2/100) vzorků lokálně pasterizovaného mléka pocházejícího z farem s potvrzenou paratuberkulózou. V 2,9 % (2/70) vzorků komerčně pasterizovaného mléka bylo detekováno životaschopné MAP v Argentině (Paolicchi et al., 2012). Jeden z pozitivních vzorků v této studii byl pasterizován za podmínek 138 °C/30 sec. Všechny jmenované studie mají podobné zastoupení pozitivních vzorků. Oproti tomu studie prováděná Shankarem et al. (2010) v Indii prokázala velmi vysokou prevalenci pozitivních vzorků (67 %; 18/27) komerčně pasterizovaného mléka. Vysoká

prevalence paratuberkulózy v Indii u skotu (43 %), buvolů (36 %) koz (23 %) i ovcí (41 %) (Chaubey et al., 2017) na jedné straně a méně efektivní kontrola veřejného zdraví v mlékárenském průmyslu na straně druhé, jsou pravděpodobnými důvody těchto výsledků (Mihajlovic et al., 2011).

**Tabulka 10 Příklady prevalence *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* v syrovém a pasterizovaném mléce a mléčných produktech v závislosti na metodě detekce**

Vzorek	Oblast	Metoda: pozitivní (%)	Zdroj
<b><u>SYROVÉ MLÉKO:</u></b>			
	USA	Kultivace: 11,6	Sweeney et al. (1992a)
	Švýcarsko	PCR: 19,7	Corti et Stephan (2002)
	VB	Kultivace: 1,6 PCR: 7,8	Grant et al. (2002)
	Irsko	Kultivace: 0,3 PCR: 12,9	O'Reilly et al. (2004)
	ČR	Kultivace: 18,4	Ayele et al. (2005)
	ČR	Kultivace: 0 qPCR: 32,5	Slana et al. (2008b)
	ČR	Kultivace: 0	<b>Hasonova et al. (2009)</b>
	ČR	Kultivace: 0 PCR: 69	Hasoňová (2009)
	Indie	Kultivace: 44 PCR: 6	Shankar et al. (2010)
	Brazílie	PCR: 16,5 qPCR: 28,1	Albuquerque et al. (2017)
<b><u>PASTERIZOVANÉ MLÉKO:</u></b>			
	Kanada	Kultivace: 0 PCR: 15	Gao et al. (2002)
	VB	Kultivace: 1,8 PCR: 11,8	Grant et al. (2002)
	Irsko	PCR: 9,8	O'Reilly et al. (2004)
	ČR	Kultivace: 1,35	Ayele et al. (2005)
	USA	Kultivace: 2,8 PCR: 2,8	Ellingson et al. (2005)
	Indie	Kultivace: 67 PCR: 33	Shankar et al. (2010)
	Argentina	Kultivace: 2,86	Paolicchi et al. (2012)

*pokračování Tabulky 10*

**MLÉČNÉ PRODUKTY:**

Sušená kojenecká výživa	EU	Kultivace: 0 PCR: 49	Hruska et al. (2005)
Sýry tvrdé, polotvrdé, měkké, feta	ČR, Řecko	Kultivace: 3,6 PCR: 31,7	Ikonomopoulos et al. (2005)
Čerstvý sýr z pasterizovaného mléka	USA	Kultivace: 0 PCR: 5	Clark et al. (2006)
Tvrdé, polotvrdé sýry ze syrového mléka	Švýcarsko	Kultivace: 0 PCR: 4,2	Stephan et al. (2007)
Čerstvý sýr (paneer) z pasterizovaného mléka	Indie	Mikroskopicky: 16,6 PCR: 0	Raghuvanshi et al. (2013)
Polotvrdý sýr	Brazílie	Kultivace: 3,3 PCR: 10	Faria et al. (2014)
Sušená kojenecká výživa	Austrálie	Kultivace: 0 qPCR: 4,9	Acharya et al. (2017)

USA – Spojené státy americké; VB – Velká Británie; ČR – Česká republika; EU – Evropská unie; PCR – polymerázová řetězová reakce; qPCR – real-time (kvantitativní) PCR

Některé studie se zabývaly odhadem expozice lidské populace MAP prostřednictvím mléka (**Tabulka 11**). Na modelových příkladech, ve kterých provedly odhad přímého vylučování MAP mlékem a kontaminaci výkaly, ukázaly předpokládané množství bakterií v syrovém mléce. Při započítání efektu tepelného ošetření mléka a efektu zředění mléka, je dle těchto modelů možno dosáhnout významné redukce výchozího množství MAP (cca do 1 CFU/l mléka). Hammer (2007) rovněž zdůrazňuje, že rozhodující výhodou všech navrhovaných scénářů je skutečnost, že MAP není schopno se množit mimo organismus hostitele a tedy bakteriální počty se mohou pouze snižovat. Modelové příklady ukazují, že konzumace syrového mléka, zejména z malé dodávky (model dle Hammera) by mohla vést k mnohem vyšší expozici touto bakterií v porovnání s pasterizovaným mlékem a produkty z něj.

**Tabulka 11 Modelové odhady expozice lidí *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* prostřednictvím pasterizovaného mléka**

Způsob kontaminace	Předpokládané množství bakterií	CFU/l syrového mléka	CFU/l pasterizovaného mléka
<b><u>Model dle Hammer (2007)</u></b>			
<p><b>Výchozí parametry:</b> malé stádo (15 dojnic), nízká produkce (10 l/dojnice/dojení).                      Pasterizace = 100 tisícinásobná redukce výchozího množství bakterií + efekt zředění.</p>			
1) <b>přímé vylučování mlékem</b>	2 – 8 CFU/50 ml mléka <sup>1</sup>	dojnice = 0,16 celé stádo = 2,4	~ 1
2) <b>fekální kontaminace</b> (= 1 g/dojnice/dojení)	10 <sup>8</sup> CFU/g výkalů	dojnice = 8 tis. celé stádo = 120 tis.	
<b><u>Model dle Nauta et van der Giessen (1998)</u></b>			
<p><b>Výchozí parametry:</b> stádo (100 dojnic), prevalence paratuberkulózy 20 %, podíl klinicky nemocných 5-10 %. Pasterizace = 100násobná redukce počátečního množství bakterií.</p>			
1) <b>přímé vylučování mlékem</b>	2 – 8 CFU/50 ml <sup>1</sup> (subklinická) 10 <sup>4</sup> CFU/l (klinická)	-	0,5 Při striktním vyřazení klinicky nemocných = 0,06
2) <b>fekální kontaminace</b> (= 10 mg/dojnice/dojení)	100-10 <sup>3</sup> CFU/g (subklinická) 10 <sup>2</sup> - 10 <sup>9</sup> CFU/g (klinická)	-	

<sup>1</sup> dle Sweeney et al. (1992a)

### **3.2.1.3 Diseminace MAP v organismu**

Predominantním místem lokalizace MAP je gastrointestinální trakt, především ileocekální oblast, avšak u rozvinutějších forem onemocnění může docházet k diseminaci i do dalších, často velmi vzdálených tkání a orgánů (Antognoli et al., 2008) (**Tabulka 12**). Naše studie prokázala, že i u subklinicky nemocných jedinců je možno MAP detekovat v různých tkáních v celém organismu. Rossiter et Henning (2001) uvádějí, že skot v pokročilém stadiu paratuberkulózy může mít silně kontaminované lymfatické tkáně, které se běžně dostávají při zpracování do produktů typu mleté hovězí maso. Při použití tohoto produktu do určitých pokrmů (hamburgery), nebývá vždy konzumováno dobře tepelně opracované a přežívání MAP je tedy možné. Mutharia et al. (2010) prokázali, že malé množství buněk MAP může přežít

úpravu mletého masa při 63 °C („*medium-rare*“), nicméně pravděpodobnost přežívání při dostatečné tepelné úpravě (75 °C) označují za nízkou.

Rossiter et Henning (2001) označují za nejrizikovější z hlediska kontaminace masa klinické případy onemocnění. Masivní přítomnost MAP ve tkáních gastrointestinálního traktu (střevo, mízní uzliny) u značného podílu (38,8 %) subklinických jedinců v naší studii však ukazuje na rizika i v případě této formy onemocnění. V průběhu zpracování porážených subklinicky nemocných zvířat může totiž dojít ke kontaminaci masa střevním obsahem nebo fekálním materiálem (Wells et al., 2009; Verma et al., 2014). Lze se tedy domnívat, že přítomnost subklinicky nemocných zvířat může představovat riziko z hlediska bezpečnosti potravin, které právě s ohledem k chybějícím či velmi nenápadným klinickým projevům může být mnohem vyšší než u klinicky zjevných případů. Alonso-Hearn et al. (2009) zjistili přítomnost MAP ve svalovině nejen klinických, ale i subklinicky nemocných jedinců a označují kontaminované maso jako jednu z možností vystavení člověka této bakterii.

**Tabulka 12 Diseminace *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* v různých orgánech u různých druhů zvířat**

Orgán	Druh zvířete	Zdroj
Střevo a mezenteriální MU	skot	Sweeney et al. (1992); Pavlik et al. (2000); Rossiter et Henning (2001); Amemori et al. (2004); Ayele et al. (2004); Alonso-Hearn et al. (2009); <b>Hasonova et al. (2009)</b> ; Mutharia et al. (2010)
	ovce, koza	Vohra et al. (2008)
	jelen lesní <sup>1</sup>	Kopecna et al. (2008)
Mléčná žláza	skot	Brady et al. (2008); <b>Hasonova et al. (2009)</b>
	ovce, koza	Vohra et al. (2008)
	jelen lesní <sup>1</sup>	Kopecna et al. (2008)
Nadvemenní MU	skot	Sweeney et al. (1992a); Antognoli et al. (2008); <b>Hasonova et al. (2009)</b>
	ovce, koza	Vohra et al. (2008)
Děloha	skot	<b>Hasonova et al. (2009)</b>
	ovce, koza	Vohra et al. (2008)
	jelen lesní <sup>1</sup>	Kopecna et al. (2008)
Varlata, nadvarlata, sperma	skot	Larsen et al. (1981); Ayele et al. (2004);
	jelen lesní <sup>1</sup>	Kopecna et al. (2008)
Plod	skot	Seitz et al. (1989); Sweeney et al. (1992b); <b>Hasonova et al. (2009)</b>
	ovce	Lambeth et al. (2004)
Podčelistní MU	skot	Pavlik et al. (2000); Ayele et al. (2004); <b>Hasonova et al. (2009)</b>

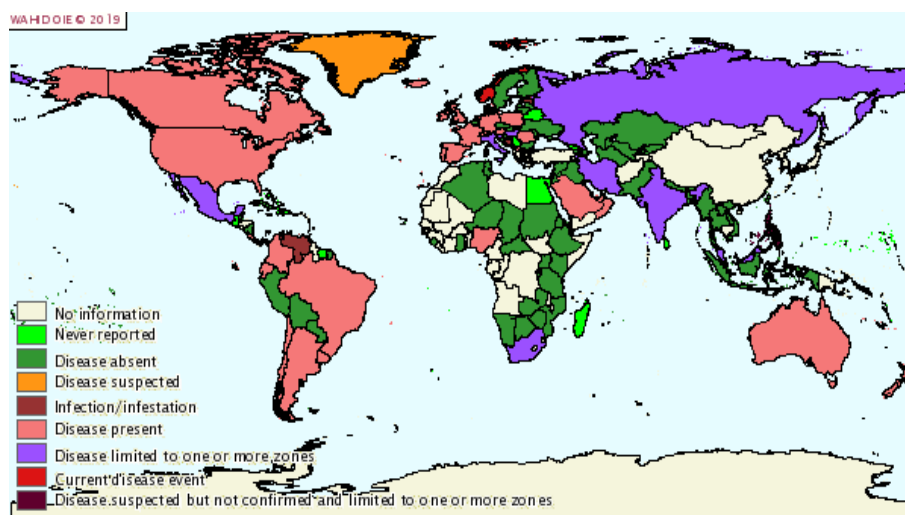


<b>Plicní MU</b>	skot	Pavlik et al. (2000); Ayele et al. (2004); Antognoli et al. (2008); <b>Hasonova et al. (2009)</b>
	jelen lesní <sup>1</sup>	Kopecna et al. (2008)
<b>MU popliteální</b>	skot	Antognoli et al. (2008)
<b>MU prescapulární</b>	skot	Antognoli et al. (2008)
<b>Játra, slezina, ledviny</b>	skot	Pavlik et al. (2000); Rossiter et Henning (2001); Ayele et al. (2004); Antognoli et al. (2008); <b>Hasonova et al. (2009)</b> ; Mutharia et al. (2010)
	jelen lesní <sup>1</sup>	Kopecna et al. (2008)
<b>Svalovina bránice</b>	skot	Alonso-Hearn et al. (2009)
<b>Srdce</b>	skot	Antognoli et al. (2008)

<sup>1</sup> – farmový chov; MU – mizní uzliny

### 3.2.1.4 MAP jako potenciální zoonotický patogen

MAP je celosvětově rozšířená ve stádech skotu, ovcí, koz a dalších druhů přežvýkavců včetně divoce žijících, které představují rezervoár pro domácí přežvýkavce (**Obrázek 3**). Jako kauzální původce paratuberkulózy (Johneho choroby) vyvolává obrovské ekonomické ztráty nejen pro chovatele především dojeného skotu, ale enormně zatěžuje i hospodaření jednotlivých států, jak dokládá i naše rešeršní studie (**Hasonova et Pavlik, 2006**).



**Obrázek 3** Přehled celosvětového výskytu paratuberkulózy (zdroj: OIE, 2019)

V posledních více než 25 letech je MAP dáváno do souvislosti s celou řadou onemocnění, především autoimunitní povahy (Garvey, 2018) (**Tabulka 13**). Nejčastěji je však MAP skloňováno s Crohnovou nemocí (Feller et al., 2007). Oponenti argumentují tím, že pro potvrzení kauzální spojitosti nejsou splněny všechny Kochovy postuláty. Na druhou

stranu Greenstein (2003) ve svém článku velmi zajímavě rozebírá možnost naplnění Kochových postulátů kombinací výsledků jednotlivých izolovaných studií a odvolává se i na nesmírnou obtížnost při izolaci a kultivaci MAP. Pro porovnání uvádí příklad jiné mykobakterie, *M. leprae*, která dosud nebyla kultivována *in vitro*, a tedy nesplňuje druhý, třetí a čtvrtý Kochův postulát. Přesto by jen málokdo pochyboval o tom, že není původcem lepry.

**Tabulka 13 Vybraná onemocnění, která se dávají do souvislosti s *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis***

Onemocnění	Zdroj
Crohnova nemoc	Hermon-Taylor et al. (2000); Naser et al. (2000); McNeese et al. (2015); Timms et al. (2016)
Autismus	Dow (2011)
Roztroušená skleróza	Cosu et al. (2011); Mamei et al. (2014)
Hashimotova thyroditida	Sisto et al. (2010)
Diabetes mellitus typ 1	Naser et al. (2013); Kawasaki et al. (2014)
Blauův syndrom	Dow et Ellingson (2010)

Přesná souvislost mezi MAP a Crohnovou nemocí je dosud kontroverzním tématem a zcela jistě nejde o jednoduchý vztah typu „příčina-následek“ (Robertson et al., 2017). V epidemiologických studiích je kromě MAP zvažováno několik dalších možných kandidátů např. *Escherichia coli* O157:H7, *Campylobacter concisus* (Uzoigwe et al., 2007; Marks et al., 2010; Chassaing et al., 2011). Frekventní izolace MAP z idiopatických zánětlivých onemocnění střeva v posledních letech však na možnou spojitost mezi MAP a těmito nemocemi ukazují (Scanu et al., 2007). Např. v nedávané brazilské studii Espeschit et al. (2017) prokázali pozitivní biopsii střeva na přítomnost MAP u osmi vzorků ze 148 odebraných. Analýzou rizikových faktorů zjistili pozitivní korelaci mezi MAP a konzumací nepasterizovaných mléčných produktů ( $p < 0.01$ ) a rodinnou anamnézou střevního onemocnění ( $p < 0.01$ ). Scanu et al. (2007) zjistili u pacientů s Crohnovou nemocí signifikantní souvislost mezi MAP infekcí a konzumací ručně vyráběných sýrů. Robertson et al. (2017) naopak ve své kritické review shledávají komerční pasterizaci za dostatečnou k inaktivaci MAP a rizika MAP z hlediska bezpečnosti potravin ve vztahu k pasterizovaným mléčným produktům nepovažují za velká.

Současné vědecké důkazy se shodují na tom, že Crohnova nemoc je výsledkem složitých interakcí genetických, environmentálních a imunologických faktorů, které u vnímavých osob mohou být vyvolány přítomností určitých mikroorganismů. Některé studie zmiňují, že svou roli kromě živého původce, může hrát i devitalizovaný původce paratuberkulózy a dokonce

i buněčné fragmenty (Hruska et al., 2005; Chamberlin et Naser, 2006; Hines et al., 2014). Kromě opakované detekce MAP DNA v sušené kojenecké výživě pocházející z několika států (Hruska et al., 2005; 2011; Acharya et al., 2017) však byla potvrzena i přítomnost životaschopné MAP (Botsaris et al., 2016) nasvědčující o vysokém zatížení mléka používaného k výrobě těchto produktů pro nejmladší věkovou kategorii. Hruska et al. (2011) zjistili v 35 % vyšetřených vzorků množství buněk MAP odpovídající přibližně 5 milionům buněk v jediném balení kojenecké výživy, které novorozenec krmený touto formou výživy během několika dní zkonsumuje. Vyšší permeabilita střevní sliznice, formování imunity a přítomnost mykobakterií coby prozánětlivého spouštěče v prvních dnech nebo týdnech po narození může o mnoho let později vést k opožděné manifestaci zánětu v cílových tkáních (Ponsonby et al., 2009).

Přítomnost MAP v mléčném řetězci je opakovaně prokazována, a to nejen molekulárními metodami, které odhalují i jen fragmenty buněk, ale i kultivačními metodami, které dokazují přítomnost životaschopných buněk v mléce a mléčných produktech. Rozšíření paratuberkulózy je celosvětové a lze říci, že v mnoha zemích, včetně ČR, ale i sousedního Německa je její kontrola již mnoho let poněkud podceňována. Dříve plánované zavedení certifikačních programů, které by roztřídily chovy dle infekčního statusu a napomohly tak nejen s monitorováním nákazy u nás, ale i ochranou zodpovědných chovatelů, dosud nebyly uskutečněny. Na druhou stranu obavy z možného zoonotického potenciálu MAP se staly v některých zemích hnací silou pro zavedení ozdravovacích programů. Např. v Nizozemí probíhá od roku 2006 kontrolní program, jehož hlavním cílem je redukování koncentrace MAP v mléce dodávaném do mlékáren. Při každoročním testování jsou stáda klasifikována na status A (negativní výsledky), B (pozitivní výsledek, s odstraněním příslušných jedinců) a C (pozitivní výsledek, příslušný jedinec ponechán ve stádě) (Weber et Schaik, 2008). Od roku 2010 je účast v tomto kontrolním programu dokonce povinná a od roku 2011 za účelem zajištění kvality mléka mohou do mléčného průmyslu dodávat mléko pouze stáda se statutem A nebo B. I v dalších státech (Dánsko, Francie aj.) probíhají monitorovací programy, někde dobrovolné, někde řízené veterinární správou. Na druhou stranu jiné státy, např. Itálie, Španělsko, Německo, ale i ČR, dosud národní ozdravovací programy zavedené nemají.

## 3.2.2 Zhodnocení výsledků kontrol kvality a bezpečnosti potravin v České republice

### 3.2.2.1 Chemické kontaminanty v surovinách živočišného původu

Trvalé sledování přítomnosti cizorodých látek (CL) v potravinovém řetězci je nedílnou součástí řízení bezpečnosti potravin, a tím zajištění ochrany veřejného zdraví.

Naše studie (Tunegová et al., 2018) se věnovala vyhodnocení výsledků kontrol přítomnosti CL v surovinách živočišného původu za období let 1999 - 2016. Byly sledovány počty pozitivních vzorků (obsah CL nepřesahující maximální limit reziduí, MRL) a počty nadlimitních vzorků (obsah CL přesahující MRL). Data byla posuzována v závislosti i) na kategorii (lovná zvěř a ryby; hospodářská zvířata; suroviny a potraviny živočišného původu), ii) na typu kontroly (monitoring, cílené vyšetřování a vyšetřování importovaných vzorků) a iii) na sledovaném období (před vstupem ČR do EU (1999 – 2004) a po vstupu do EU (rozdělené do dvou kratších období: 2005 – 2010; 2011 – 2016)).

V průběhu sledovaných let došlo postupně k výraznému snižování počtu pozitivních nálezů, a to zejména po vstupu ČR do EU. V období před vstupem do EU byl podíl pozitivních vzorků  $30,56 \pm 5,81$  % (z celkového počtu vyšetřených = 610 458), zatímco po vstupu (2005 – 2016) činil  $6,34 \pm 4,18$  % (z celkem 781074 vyšetřených vzorků). Podíly nadlimitních vzorků činily před vstupem do EU  $0,24 \pm 0,08$  % a po vstupu  $0,17 \pm 0,04$  %. Na druhou stranu vstupem ČR do EU se změnil i systém sledování přítomnosti CL. Před vstupem do EU byly kontroly organizovány především jako cílené, tedy ty, které slouží hlavně k zachycení parametrů nevyhovujících platným předpisům a k přijetí následných opatření. Po vstupu do EU je sledování CL řešeno hlavně průběžným monitoringem, tedy pravidelné a opakované sledování přesně určených ukazatelů, sloužící dozorovým složkám k hodnocení rizik. Zatímco kontroly řeší momentální stav, monitoring hodnotí dlouhodobý vývoj a umožňuje též jeho prognózu.

Pokud se týká mléka, kterému je věnována tato habilitační práce, bylo v naší studii zařazeno do kategorie „potraviny a suroviny živočišného původu“. Zátěž kontaminanty v této kategorii je převážně odrazem kontaminace krmiv a následně tkání zvířat.

Nadlimitní hodnoty v této kategorii byly v naší studii prokázány ve sledovaném období pouze sporadicky. Na druhou stranu za varující lze označit vysoká procenta pozitivních nálezů u CL, které se kumulují jak v životním prostředí, tak ve tkáních zvířat i lidí. Jednou z nejčastěji skloňovaných látek s kumulativním charakterem je dichlordifenyltrichlorethan (DDT).

S ohledem k širší problematice CL je právě tato část komentářů věnována pouze DDT, a to i s ohledem na to, že DDT je látkou s výraznou afinitou k mléku.

První použití DDT je datováno již do období druhé světové války, a to proti přenašečům malárie (komáři rodu *Anopheles*) a skrvnitého tyfu (vši). Jistě lze vyzdvihnout, že pomocí DDT bylo velké množství lidí zachráněno před infekcí a pravděpodobně i smrtí v důsledku těchto závažných onemocnění, u kterých podstatnou roli hrají členovci (Berry-Caban, 2011). O významu DDT nakonec svědčí i skutečnost, že za objev jeho účinků proti různým členovcům byl Paul Hermann Müller oceněn v roce 1948 Nobelovou cenou.

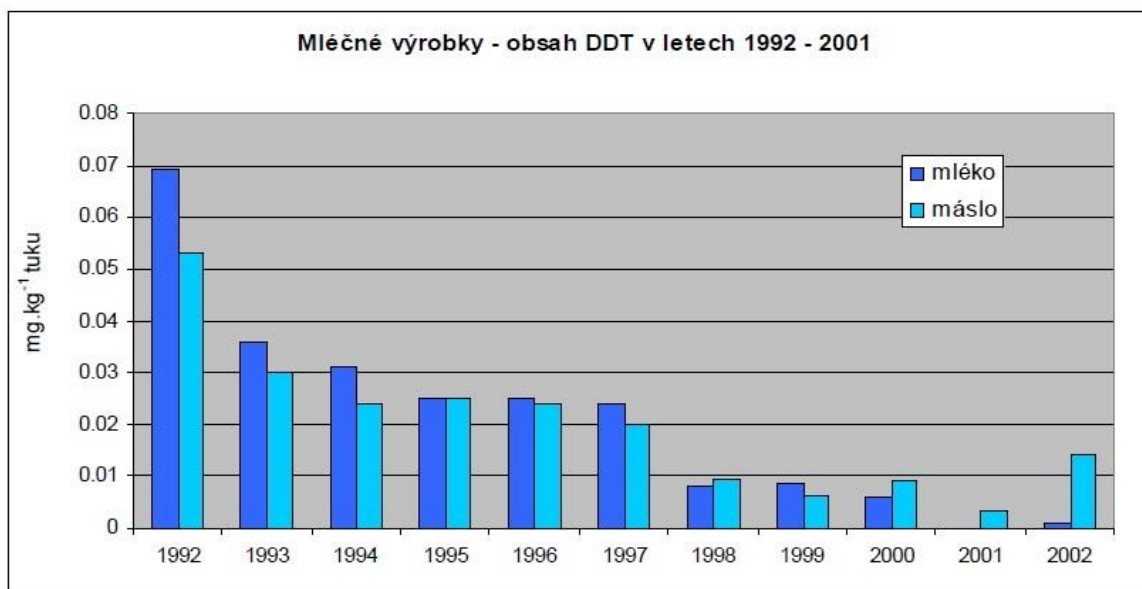
Nicméně období 50. – 60. let minulého století bylo příznačné nadužíváním tohoto insekticidního přípravku, zejména v zemědělství k hubení různých škůdců. Na začátku 60. let byla roční spotřeba DDT více než 400 tisíc tun celosvětově, z toho 70 – 80 % bylo použito právě v zemědělství (Turusov et al., 2002). Na škodlivý účinek DDT na vyšší organismy a potřebu omezení jeho vysoké spotřeby upozornila knihou *Silent Spring* v roce 1962 Rachel Carson (Epstein, 2014). Během 70. let docházelo na základě mezinárodních environmentálních úmluv k postupnému zákazu používání DDT ve více než 70 vyspělých zemích. Např. v USA bylo používání DDT zakázáno v roce 1972, na našem území v roce 1974 (Beránek et Petrlík, 2005), v sousedním Polsku v roce 1975 (Kuba et al., 2015). V současné době umožňuje Stockholmská konvence použití DDT pouze ke kontrole vektorů onemocnění, hlavně malárie (Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants, 2009). Díky zákazu širokého používání DDT, na jehož rizika upozornila právě Carson ve své revoluční knize, se výrazně zpomalil rozvoj rezistence komárů vůči tomuto insekticidu, který je tak ve většině problematických oblastí dosud účinný. Jediným producentem DDT je dnes Indie, ve které se i většina (82 %) z vyrobeného DDT využije. Zbývající část DDT se vyváží zejména do afrických zemí (Van den Berg et al., 2017).

I přes více než 40 let trvající zákaz používání DDT je tato látka stále prokazována v surovinách živočišného původu. Příčinami této situace je široké používání v minulém století, velmi pomalá degradace DDT i jeho metabolitů a jejich dlouhodobé přetrvávání v životním prostředí. Významnou příčinou je i dovoz např. krmiv z rozvojových oblastí, ve kterých bylo nebo dosud je používání DDT povoleno. K situaci jistě neblaze přispěla i spotřeba starých zásob DDT i po zákazu používání, typicky např. k hubení vší, které trvalo až do konce 70. let. Na začátku 90. let bylo na našem území zjištěno více než 500 tun oficiálně skladovaných obsoletních chloridových pesticidů (mezi nimi i DDT), avšak skutečné množství bylo

pravděpodobně mnohem vyšší. Dokonce ještě relativně nedávno bylo vykopáno několik úložišť těchto látek na našem území (Beránek et Petrlík, 2005).

DDT a jeho metabolity, především dichlordifenyldichlorethen (**DDE**), vykazují extrémní stálost a vysokou schopnost akumulace ve všech tkáních organismu, ale nejvíce v tkáni tukové. Zvláště nebezpečná je schopnost těchto látek procházet i placentou a přecházet do mateřského mléka. DDT je spojováno s celou řadou negativních účinků na lidský organismus. Může vést k rozvoji rakoviny prsu (Cohn et al., 2007), narušení imunitních funkcí (Cooper et al., 2004) a při prenatální expozici k opožděnému vývoji nervového systému (Eskenazi et al., 2006). Působí také jako hormonální disruptor a narušuje metabolismus steroidních hormonů, což má za následek reprodukční problémy (Bretveld et al., 2006; Soto et Sonnenschein, 2015).

Pro člověka jsou hlavním zdrojem DDT potraviny živočišného původu s vyšším obsahem tuku, tedy i mléko a výrobky z něj, zejména máslo (**Obrázek 4**).

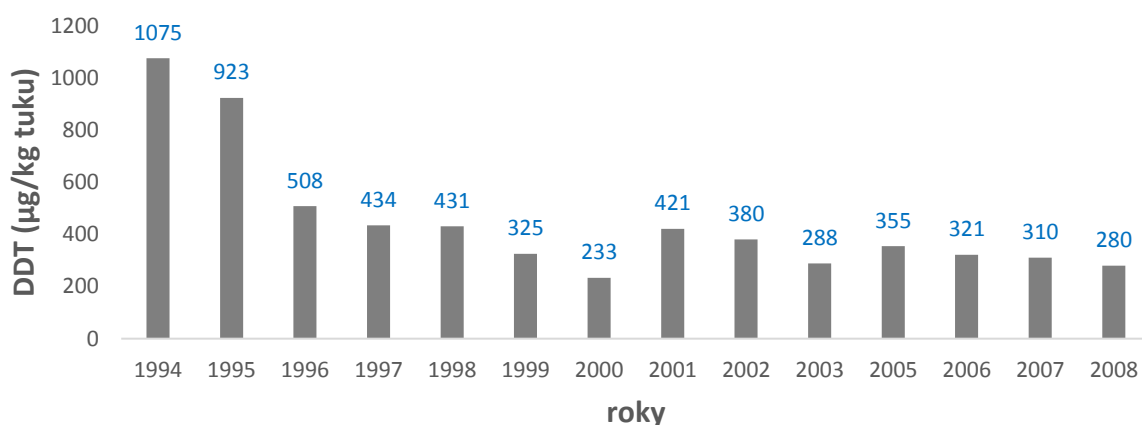


**Obrázek 4** Obsah DDT (v mg/kg tuku) v syrovém kravském mléce a v másle v letech 1992 – 2002 (zdroj: Holoubek et al., 2004, citováno v: Beránek et Petrlík, 2005)

Výsledky nejen naší, ale i dalších studií v rámci Evropy (Kuba et al., 2015) ukazují, že ve sledovaných vzorcích kravského mléka se stále nachází měřitelné množství DDT. Tyto nálezy svědčí o přetrvávající kontaminaci prostředí. Na druhou stranu je patrné snižování množství DDT nejen v mléce, ale i v ostatních potravinách živočišného původu. Pokračování v monitorování prostředí, vody, krmiv i produktů živočišného původu je pro zajištění bezpečného potravinového řetězce nezbytné. Pravidelné kontroly by měly být zaměřeny také na importy potravin a krmiv.

Jako spolehlivý ukazatel zátěže populace je prováděn průkaz těchto látek v mateřském mléku. Údaj zároveň ukazuje na expozici jedince jak v prenatálním období, tak u kojeného novorozence. Podle údajů Státního zdravotního ústavu (SZÚ, 2008) je v mateřském mléku u žen v ČR prokazován příznivě dlouhodobý sestupný trend v obsahu DDT (**Graf 4**). Během 90. let minulého století postupně klesala hladina DDT v mateřském mléku a v prvním období 21. století se hodnoty pohybovaly mezi 300 – 400 µg/kg mléčného tuku. Podobný vývoj je popisován i v dalších zemích, kde je použití DDT dlouhodobě zakázáno (Konishi et al., 2001; Polder et al., 2008).

**Graf 4 Suma DDT v mateřském mléce (µg/kg tuku) v letech 1994 - 2008**



Upraveno podle: SZÚ (2008); *pozn. údaje za rok 2004 nebyly k dispozici*

Trvale se snižující trend průměrných hodnot v jednotlivých sledovaných obdobích v naší studii se odráží i v postupném snižování celkového počtu vyšetřovaných vzorků v rámci monitoringu (**Tabulka 14**). V období před vstupem do EU bylo průměrně vyšetřeno téměř 200 vzorků syrového kravského mléka ročně na přítomnost DDT, z nichž 90 % bylo pozitivních. Postupně se počet vyšetřených vzorků mléka snížil až na necelých 20 ročně v období 2011 - 2016, s 15 % pozitivních vzorků na přítomnost DDT. Průměrná hodnota DDT se mezi prvním a druhým obdobím příliš nelišila (0,0135, resp. 0,0147 mg/kg tuku), avšak ve třetím období již byla o polovinu nižší (0,0008 mg/kg tuku). MRL DDT v mléce je 0,04 mg/kg tuku (Nařízení Komise (EU) č. 212/2013). V prvním a druhém sledovaném období byla průměrná hodnota DDT téměř 3x nižší, ve třetím období byla hodnota DDT dokonce 50x nižší než je MRL DDT v mléce.

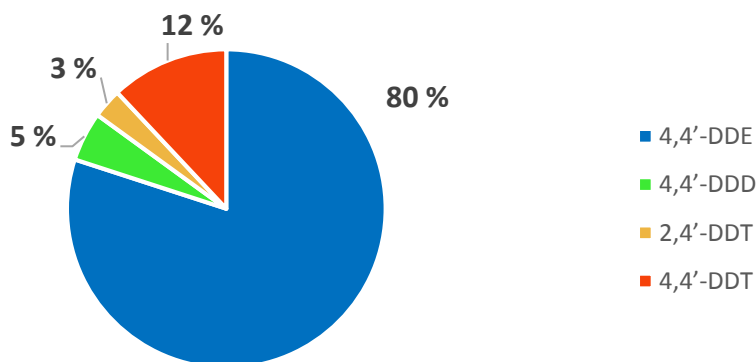
**Tabulka 14 Průměrné hodnoty DDT ve vzorcích syrového kravského mléka (mg/kg tuku) z monitoringu v období 1999 - 2016**

Období	Počet vyšetřených		Počet pozitivních		% pozitivních		Hodnota za období		Maximální hodnota	
	$\bar{x}$	$s_x$	$\bar{x}$	$s_x$	$\bar{x}$	$s_x$	$\bar{x}$	$s_x$	$\bar{x}$	$s_x$
I	172,7 <sup>b</sup>	38,3	153,5 <sup>b</sup>	21,7	90,0 <sup>a</sup>	7,1	0,0135 <sup>a</sup>	0,0023	0,1202	0,0663
II	49,3 <sup>a</sup>	29,5	39,0 <sup>a</sup>	30,1	74,8 <sup>a</sup>	9,8	0,0147 <sup>a</sup>	0,0077	0,1217	0,1473
III	18,0 <sup>a</sup>	7,2	2,7 <sup>a</sup>	1,6	14,7 <sup>b</sup>	7,9	0,0008 <sup>b</sup>	0,0003	0,0035	0,0026

I – 1999-2004, II – 2005-2010, III – 2011-2016; <sup>a, b</sup> průměry s odlišnými horními indexy ve sloupci se statisticky významně liší na hladině významnosti  $P < 0,001$

Z dostupných dat za sledované období 1999 – 2016 bylo dodatečně zjištěno, že dominantním izomerem byl na našem území 4,4'-DDE, který tvořil 80 % ze sumy DDT v mléce (**Graf 5**). Podobné výsledky získali ve vzorcích kravského mléka i Kuba et al. (2015) v Polsku. V prostředí je DDT degradováno na DDE a dále na **DDD** (dichlordifenyldichlorethan), přičemž izomer DDE je v prostředí nejstálejší. Vysoce lipofilní povaha a nízká reaktivita DDE zapříčiňují jeho výraznou akumulaci v tukové tkáni. Kuba et al. (2015) prokazovali v nejmenším zastoupení izomery 2,4'-DDT (2 %) a 4,4'-DDT (2 %). Na území ČR je izomer 4,4'-DDT druhým nejčastěji prokazovaným (12 %) zástupcem ze sumy DDT.

**Graf 5 Rozložení jednotlivých DDT metabolitů (%) v sumě DDT v syrovém kravském mléce**



I přes adekvátně nastavené MRL je třeba si uvědomit, že mezi jednotlivými zeměmi jsou stále značné rozdíly. Zvláště v rozvojových zemích je dosud nedostatečné uplatňování legislativních předpisů ve vztahu k řešení koncentrací škodlivých kontaminantů v potravinách. Řada z těchto zemí je silně závislých na zemědělství, což má za následek široké používání pesticidů, které kontaminují podzemní vody a dostávají se i do potravinového řetězce (Rather



et al., 2017). Vzhledem k silné globalizaci obchodu v posledních letech je třeba se otázkou chemických kontaminantů a riziky s nimi spojenými trvale zabývat.

### **3.2.2.2 Zhodnocení kontrol zaměřených na falšování potravin**

Fenomén falšování potravin je popisován od dob, kdy se potraviny staly předmětem obchodování. Existují např. důkazy z období starověkého Říma o falšování vína jeho ředěním vodou, přidáváním cukru nebo barviv (Spink et Moyer, 2011).

Termíny falšování, klamání nebo také potravinový podvod zahrnují úmyslné nahrazení, doplnění, manipulaci nebo zkreslení údajů u potravin, jejich přísad nebo obalů, a rovněž klamavé či zavádějící prohlášení o produktu za účelem ekonomického zisku (Spink et Moyer, 2011). K potravinovým podvodům může prakticky docházet v jakékoliv fázi potravinového řetězce (Capuano et van Ruth, 2012). Hlavním motivem k těmto činnostem od počátku byl a dosud je zejména ekonomický prospěch, a proto jsou nejčastěji falšovány drahé potraviny (např. víno a koření) a potraviny prodávané ve velkých objemech (např. masné a mléčné výrobky). Lze říci, že současné postupy klamání spotřebitelů jsou čím dál sofistikovanější (Koubová, 2019) a obvykle odrážejí změny v legislativě, v dostupnosti a v cenách surovin k výrobě daného produktu (Čížková et al., 2012).

Podvody v oblasti potravin ve většině případů neznamenaají ohrožení bezpečnosti a zdraví konzumentů, ale jedná se o jejich klamání ať již zhoršenou kvalitou prodávaných produktů či klamavými informacemi o daném produktu. Na druhou stranu jsou popsány velmi závažné případy spojené i s úmrtím konzumentů, např. v posledních letech mediálně nechvalně známá melaminová (2008) a methanolová kauza (2012).

Potravinové podvody jsou vzrůstajícím trendem, který odráží slabé stránky potravinového dodavatelského řetězce (Spink et al., 2017). Populárním a politicky pohodlným přesvědčením je, že podvody jsou převážně vnější hrozbou způsobenou organizovanými skupinami, které se snaží proniknout do dodavatelských řetězců. Ve skutečnosti je však hlavní problém přímo v samotném potravinovém systému a podvody páchají jeho legitimní účastníci (Lord et al., 2017). Významným faktorem, který podporuje nárůst potravinových podvodů, je mj. globalizace potravinových řetězců, která může být spojena např. se zhoršenou dosledovatelností potravin (van Ruth et al., 2017).

Naše studie (Koubová et al., 2018) byla zaměřena na vyhodnocení klamání spotřebitele v maloobchodech ve dvou vybraných letech (2009 a 2013). Podkladem pro vlastní hodnocení byla správní řízení z databáze Státní zemědělské a potravinářské inspekce (SZPI), která byla

zahájena na základě porušení článku 16 (Obchodní úprava) Nařízení Evropského Parlamentu a Rady (ES) č. 178/2002, který zní: „*Aniž jsou dotčena specifitější ustanovení potravinového práva, nesmí označování, propagace a obchodní úprava potravin nebo krmiv, jejich tvar, vzhled nebo balení, použité obalové materiály, způsob jejich úpravy a místo vystavení, jakož i informace poskytované o nich jakýmkoli médii uvádět spotřebitele v omyl.*“

Vybraná klamání (n=224 v roce 2009; n=326 v roce 2013) byla dále rozlišena i) dle místa detekce (inspektorem přímo na místě vs. v laboratoři), ii) dle způsobu podvodu a iii) dle kategorie potravin. Jednou z hodnocených kategorií byly i mléčné produkty. Způsoby jejich klamání, které nebyly konkrétně uvedeny v naší publikaci (Koubová et al., 2018) zde budou blíže komentovány.

Mléko je vysoce komplexní tekutina (Nollet et Toldrá, 2017), jejíž složení je přirozeně dynamické a mění se průběžně pod vlivem různých faktorů (Molkentin, 2013). Čím je potravina komplexnější a variabilnější, tím náchylnější je k podvodům vzhledem k obtížnosti analyzovat změny (Food Chemical Codex, 2015).

Mléko a mléčné výrobky jsou falšovány různými způsoby. Běžným podvodem je ředění mléka vodou a úbytek proteinů, ke kterému takto dochází, je pak nahrazován ve vodě rozpustnými dusíkatými látkami, jako je melamin, močovina nebo síran amonný (Finete et al., 2013). K dalším látkám, které jsou přidávány do mléka, patří např. škrob, cukr, želatina (Afzal et al., 2011; Singh et Gandhi, 2015). Některé z přidávaných látek jsou v podstatě neškodné, naproti tomu jiné, např. melamin mohou působit toxicky a v extrémních případech vést i k úmrtí jedince. Ještě na začátku minulého století byl v řadě států za účelem prodloužení trvanlivosti přidáván do mléka formaldehyd. V rozvojových zemích je možno se s těmito praktikami setkat i v dnešní době (Arora et al., 2004). Dalším způsobem falšování mléka a mléčných produktů je náhrada mléčné složky, nejčastěji tuku za levnější variantu např. rostlinné oleje (Kumar et al., 2010). Mléčný tuk je důležitou složkou mléka. Hraje významnou roli ve fyzikálně-chemických vlastnostech mléka i mléčných výrobků, je zdrojem vitaminů rozpustných v tucích a esenciálních mastných kyselin a nositelem chuťových vlastností, čímž představuje velmi drahou surovinu (De La Fuente et Juárez, 2005).

Konkrétně u mléka a mléčných výrobků bylo zjištěno, že vzhledem k tomu, že se konzumenti v současné době čím dál více zajímají o informace o původu potravin včetně informací o způsobu krmení a ustájení dojníc nebo o řízení stáda, ekologické produkty získávají přidanou hodnotu v porovnání s produkty z konvenčního hospodaření. Vedlejším efektem je ovšem často to, že tyto produkty mohou být podvodně nesprávně označeny. Obecně tedy

jakékoliv speciální atributy, které jsou pro dnešní konzumenty vysoce atraktivní (evropské značky kvality potravin, produkty z organického systému chovu, aj.), jsou zároveň potenciálně zranitelné k podvodům (Capuano et al., 2014).

Moore et al. (2012) nedávno analyzovali rozsáhlou databázi potravinových podvodů, kterou vytvořila *The United States Pharmacopeial Convention*. Tato databáze zahrnuje jednotlivé incidenty za období 1980 – 2010 získané jak z vědeckých publikací, tak z vybraných médií. Moore et al. (2012) z databáze zjistili, že mléčné výrobky patří k jedné z nejnáchylnějších kategorií ve vztahu k podvodnému zacházení. Potřeba takové databáze je dle autorů zcela evidentní. Informace v ní zahrnuté mohou být užitečným nástrojem např. pro dozorové orgány hodnotící rizika u konkrétních produktů v konkrétních regionech.

V našem šetření jsme zjistili, že nejvíce podvodného jednání bylo v obou sledovaných letech spojeno s masnými výrobky, dále s nápoji včetně vína a s pekařskými výrobky. Překvapivě nejméně případů klamání bylo zjištěno u medu. Med přitom patří mezi luxusní potraviny a dle výše zmíněné databáze je spolu s olivovým olejem, mlékem a šafránem nejčastěji falšovanou potravinou (Moore et al., 2012). Pokud se jedná o mléčné výrobky, podíl klamání spotřebitelů byl u této skupiny relativně nízký. V roce 2009 to bylo 9 %, z toho 6 % bylo odhaleno inspektorem v obchodě a 3 % bylo prokázáno laboratorně a v roce 2013 byl podíl klamání u mléčných výrobků 7 %, 5 % zjištěno přímo na místě a 2 % v laboratoři.

Přímo v obchodě bylo v obou sledovaných letech nejčastěji prokazováno pozměňování dat spotřeby mléčných výrobků. Při tomto způsobu klamání prodejce záměrně pozměňuje (přepisuje či umazává) výrobcem natisknutá data o použitelnosti výrobku na obalu, čímž uměle prodlužuje jeho trvanlivost. Takové jednání je nepřijatelné především s ohledem na zdravotní nezávadnost produktu, kdy může dojít k pomnožení mikroorganismů, a to včetně patogenních. Druhým nejběžněji prokazovaným způsobem bylo klamání spotřebitele při označování potraviny regálovým štítkem. Především se jedná o zavádějící informace o obsahu tuku, výrobcí, zemi původu apod. Z konkrétních příkladů lze uvést např. označování výrobku v regále jako „sýr“, ačkoliv se jedná o analog sýra. Analogové výrobky jsou levnější variantou, u níž je některá z výchozích mléčných složek, např. tuk částečně nebo zcela nahrazena jinou, nemléčnou složkou např. rostlinným olejem. To, že drahé výrobky jakými jsou i sýry, mají své levnější protějšky, je zcela v pořádku. Nezbytné však je, aby jejich označování výrobcem bylo správné, tj. nelze je uvádět na trh pod označením „sýr“. Zcela nezaměnitelně musí být označeno také místo jejich uložení v distribuční síti. V dotazníkovém průzkumu zaměřeném na informovanost zákazníků o analogových výrobcích sýrů (Hasoňová et al., 2012) bylo

zjištěno, že téměř polovina (48 %) dotázaných respondentů sleduje informace o výrobcích na obalech jen občas a 15 % vůbec. Takový výsledek je poměrně zářející, neboť právě obal je nejpodstatnějším zdrojem informací o výrobku. Přitom většina respondentů (58 %) vyjádřila nelibost k nejasnému označování či neoznačování místa uložení analogových výrobků v distribuční síti a vědomí, že se jedná o analogový výrobek, by u 61 % ovlivnilo jejich rozhodování při nákupu. Spotřebitel je při nákupu ovlivňován mnoha faktory a jedním z nich je bezpochyby správné označování, kterým by se necítil být klamán. Pokud jsou informace předkládány nejasně, neúplně či dokonce zcela chybí, vzniká k danému výrobku ze strany spotřebitele nedůvěra. Na druhou stranu vzhledem k tomu, že jedním z hlavních kritérií výběru je pro spotřebitele cena a zejména pokud je výrobek právě „v akci“, tak se spotřebitel již příliš nezajímá o informace na obalu výrobku. To může být v konečném důsledku obchodníky promptně využíváno.

V několika případech bylo také prokázáno klamání týkající se potravin s některou z evropských značek kvality potravin. Jak již bylo uvedeno výše, výrobky se specifickými, pro spotřebitele atraktivními, atributy, mezi které patří i chráněná označení výrobků (chráněné označení původu, chráněné zeměpisné označení, zaručená tradiční specialita), jsou často předmětem klamavého jednání ze stran výrobců i prodejců (Capuano et al., 2014).

V případě laboratorních analýz bylo v roce 2009 nejčastěji zjišťováno menší množství složky oproti deklarovanému složení dle obalu výrobku. Konkrétně se jednalo se o nižší obsah tuku, sušiny a tuku v sušině. Poněkud odlišná byla situace v roce 2013, kdy byla nejčastěji prokazována náhrada určité mléčné složky (hlavně mléčného tuku) za levnější variantu (rostlinné tuky). Tento způsob klamání byl i v jiných studiích častým nálezem (Kumar et al., 2010; Singh et Gandhi, 2015).

Nejvyšší výskyt potravinových podvodů u mléčných výrobků je v současné době uváděn v rozvojových zemích. Např. v Indii většina vzorků mléka (více než 60 %, někde dokonce 100 % vzorků), hlavně v městských oblastech, neodpovídá standardům a mléko je nejčastěji ředěno vodou. Jako hlavní důvod vysokého podílu falšování mléka v rozvojových zemích je uváděn nedostatečný dozor v oblasti ochrany bezpečnosti potravin. V rozvinutých oblastech jako je EU a USA je systém zabezpečení mléčného řetězce na vysoké úrovni, a tedy případy falšování mléka jsou vzácnější. Je také uváděno, že zájem o falšování mléka není v rozvinutých státech tak vysoký jako v rozvojových (Handford et al., 2016).

### 3.2.3 Spotřebitel a jeho role z hlediska bezpečnosti potravin

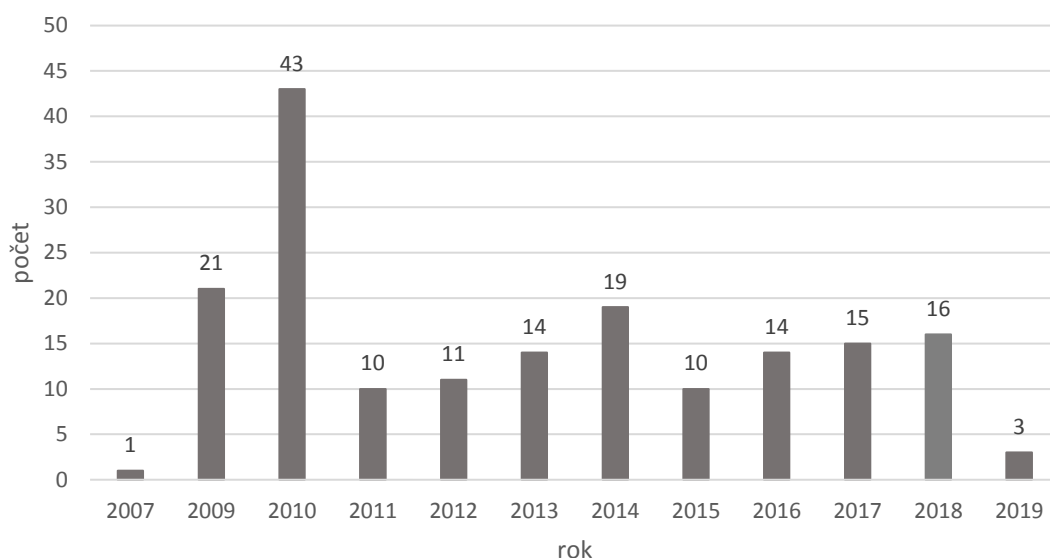
Koncovým článkem potravinového řetězce je samotný konzument a i jeho role z hlediska bezpečnosti potravin nesmí zůstat opomenuta. V následujícím textu je tato role a možná rizika spojená s nevhodným či neinformovaným chováním konzumenta ilustrována na příkladu zacházení se syrovým kravským mlékem.

Podle informací EFSA je v rámci EU pozorována stoupající tendence konzumace syrového mléka, přičemž hlavním uváděným důvodem jsou příznivé účinky na zdraví konzumentů (EFSA, 2015a). V ČR byl, po mnoha desetiletích zákazu, prodej syrového mléka znovu povolen, a to nejprve v roce 1999 jako tzv. prodej ze dvora, a poté v roce 2007 i prostřednictvím prodejních mléčných automatů (MA). Počty aktuálně provozovaných MA na našem území jsou proměnlivé a odvislé od nákupních cen mléka. Po období vysokého zájmu o nákup syrového mléka v letech 2010 – 2012 následoval určitý pokles. Rozdíly jsou také patrné v jednotlivých krajích. K dnešnímu dni je na našem území k prodeji syrového mléka registrováno více než 350 subjektů k prodeji mléka ze dvora a více než 170 MA (SVS ČR, 2019).

Zrušení mléčných kvót v roce 2015 bylo logicky následováno zvýšením počtu registrací MA. Za období 2015 – 2019 bylo celkem nově registrováno 58 MA (**Graf 6**). Tyto údaje vypovídají o tom, že zájem o nákup syrového mléka je, zejména v některých regionech, stále značný. To je jistě příznivé s ohledem na žádoucí konzumaci mléka jako významné složky lidské výživy, nicméně nákup této citlivé suroviny současně klade značné nároky na samotného konzumenta. Zajištění kvality a zdravotní nezávadnosti je podmíněno adekvátním zacházením se syrovým mlékem, kdy konzument musí přijmout a respektovat příslušná opatření a doporučení týkající se převozu syrového mléka z místa nákupu do domácností, zacházení a skladování. V každé z těchto oblastí může být kritický bod a každá oblast může tedy mít potenciální vliv na mikrobiologickou kvalitu a bezpečnost syrového mléka (EFSA, 2015b).

K přepravě by měly být používány termotašky, délka přepravy musí být velmi krátká, syrové mléko musí být tepelně ošetřeno před konzumací a skladováno při teplotě v rozmezí 4 – 6 (8) °C (Molini et al., 2017).

**Graf 6 Přehled o počtech mléčných automatů na našem území dle roku schválení**



Upraveno podle: SVS ČR (2019)

V našem dotazníkovém průzkumu (**Hasoňová et al., 2016**), který byl úzce zaměřen pouze na zákazníky nakupující syrové mléko z MA, bylo zjištěno, že většině lidí (53 %) trvá jeho přeprava do 30 minut. Část respondentů (12 %) však udalo délku přepravy mléka nad jednu hodinu a jeden respondent dokonce uvedl čas nad tři hodiny. Podobný průzkum prokázal, že 33 % dotázaných přepravuje mléko domů déle jak jednu hodinu (Stejskalová, 2010). Někteří provozovatelé na MA uvádějí doporučení, aby konzument neuchovával mléko při teplotě nad 8 °C po dobu delší než jednu hodinu. Riziko přerušení chladírenského řetězce, které může vést k prudkému nárůstu v mléce přítomných mikroorganismů (včetně patogenních), je logicky nejvyšší v teplých měsících roku.

Ve dvou podobně zaměřených průzkumech (**Hasoňová et al., 2016, 2018**) bylo zjištěno, že většina (71 %) z celkových 107 lidí nakupujících syrové mléko jej před konzumací pouze zchladí, a poté konzumuje syrové. Zbývající část respondentů mléko pasterizuje nebo používá pouze k vaření. Jedním z hlavních kritických bodů v zacházení se syrovým mlékem je právě tepelné ošetření. Provozovatelé MA sice toto doporučení musí dle platné legislativy povinně uvádět na prodejním automatu a nabádat tak zákazníka k správné manipulaci, nicméně konzument již není legislativou vázán a je pouze na jeho zodpovědnosti, zda jej tepelně ošetří.

Velmi důležitou podmínkou je dále délka uchovávání mléka, která by podle některých doporučení neměla být delší než tři dny. Chramostová et al. (2014) doporučují skladovat mléko maximálně při 4 °C po dobu 24 hodin, neboť tím je zajištěn nízký počet mikroorganismů

a dobrá jakost syrového mléka. Za rizikové chování, které bylo zjištěno v naší studii (**Hasoňová et al., 2016**) lze označit prodlužování skladování mléka až na tři dny, a to i konzumenty, kteří mléko tepelně neupravují. Především kontaminující psychrotrofní mikroorganismy, které jsou schopny produkce termostabilních proteolytických a lipolytických enzymů, mohou významně zhoršit senzoričné i technologické vlastnosti mléka (Hantsis-Zacharov et Halpern, 2007). Jejich generační doba se pohybuje při chladničkových teplotách v rozmezí 5 – 20 hodin (Chramostová et al., 2014).

V naší studii bylo prokázáno, že nárůst kontaminující mikrobioty v syrovém mléce i při zachování teplotních podmínek skladování může být již po 24 hodinách značný (**Hasoňová et al., 2017**), proto se lze přiklonit k doporučení, aby bylo syrové mléko po nákupu v co nejkratším čase zkonsumováno.

Velmi důležitým předpokladem pro udržení kvality syrového mléka je nízká počáteční hodnota celkového počtu mikroorganismů (Erkmen et Bozoglu, 2016). Tímto požadavkem se tedy vracíme na samý začátek kapitoly 3.2, potažmo na začátek celého mléčného řetězce, tedy do prvovýroby.

### **3.2.4 Změny související s bezpečností potravinového řetězce**

Zmíněné aspekty bezpečnosti potravin (mikroorganismy, chemické kontaminanty, falšování potravin, chování konzumenta) je na samém konci práce vhodné uvést do kontextu se změnami, které se týkají produkce zvířat, obchodu, zdraví obyvatelstva, celospolečenských změn, ale i změn vlastností etiologických agens. Zasazení do příslušných souvislostí napomáhá komplexnímu přístupu k celé problematice a jsou to právě změny, které vytvářejí nové podmínky a vedou k novým výzvám, kterým musí oblast bezpečnosti potravinového řetězce čelit a jejichž konsekvence, a to i daleko do budoucna, se musí snažit předpovídat a adekvátně na ně reagovat.

#### *Zranitelná populace*

Samostatnou oblastí je zdraví obyvatelstva jako takové. Skutečnost, že v posledních letech významně stoupá počet onemocnění spojených s narušením imunitního systému (imunodeficiencie, autoimunitní onemocnění, alergie) napovídá o zhoršujícím se zdravotním statusu obecně. Také demografické profily se mění a stoupá podíl lidí, kteří jsou více vnímaví i k oportunním patogenům (Harpaz, 2016). Zvýšený počet imunosuprimovaných lidí znamená

větší zranitelnost populace, což může být jedním z klíčových momentů zvýšeného výskytu celé řady onemocnění včetně alimentárních.

#### *Zákazník náš pán*

Změny ve stravovacích návycích, jako jsou preference čerstvých a minimálně zpracovaných potravin, a zvyšující se prevalence stravování se mimo domov, jsou faktory přispívající ke zvýšené incidenci alimentárních onemocnění způsobených mikroorganismy. Současně lidé také požadují širší škálu potravin, než tomu bylo v minulosti; chtějí potraviny, které nejsou sezónní, a ani pro danou oblast původní a často dochází k výraznému prodlužování intervalu mezi zpracováním a konzumací potravin (Román et al., 2017).

Spotřebitelé se v současné době mnohem více zajímají o bezpečnost kupovaných potravin a vyžadují odpovědi na konkrétní otázky týkající se zejména účinku na jejich zdraví. Spotřebitelé jsou silně ovlivňováni informacemi v médiích, které však mnohdy bývají uváděny mimo jakýkoliv kontext. Spotřebitelé vyžadují, aby jejich potraviny byly zcela bez zdravotních rizik, s nulovými obsahy kontaminujících látek apod. Poplašné zprávy, které jsou dnes silně akcelerovány díky internetu, vyvolávají frustraci zákazníků z toho, že rady ohledně výběru potravin se stále mění (Chase, 2015).

Veřejnost by si měla především zachovat zdravou dávku skepse ke zprávám týkajícím se potravin, alespoň dokud tyto nebudou vědecky podloženy. Současně by odborníci z oblasti zdraví, výživy aj. měli být aktivní a pomáhat uvádět informace na pravou míru.

#### *Intenzifikace zemědělské produkce*

Intenzivní zemědělská produkce je těsně spojena s problematikou reziduí chemických látek k ochraně rostlin a veterinárních léčiv. Problematika kontaminujících látek v krmivech má také enormní význam.

Mění se zemědělské postupy, intenzivní technologie chovu zvířat zavedené k minimalizaci produkčních nákladů, mohou vést ke vzniku nových zoonotických onemocnění. Změny v produkci potravin vedou ke vzniku nových typů potravin, které mohou být zdrojem méně běžných patogenů (Jones et al., 2013).

#### *Měnicí se původci*

Trvalé přizpůsobování se měnícím se podmínkám prostředí je základní charakteristikou života. Změny v chování mikroorganismů se např. v 80. – 90. letech týkaly nekultivovatelných avšak životaschopných bakterií. Poprvé byl tento jev popsán u *Vibrio cholerae*, poté byl jev zkoumán u řady dalších mikroorganismů. Jde o fyziologický mechanismus, jakým



mikroorganismy reagují na stresové faktory. Později byla zkoumána schopnost mikroorganismů osídlovat často nehostinné povrchy včetně materiálů potravinářského průmyslu. Přestože tvorba biofilmů byla již dlouho předmětem výzkumů ve vodním prostředí, v oblasti potravinářství se dostala do popředí až v 90. letech.

Mění se vlastnosti původců onemocnění z potravin související s rezistencí mikroorganismů v konkrétních podmínkách, ale i výskyt nových patogenů nebo patogenů dříve nesouvisejících s potravinami jsou hlavními problémy v ochraně veřejného zdraví.

Pochopení ekologie mikroorganismů je základním předpokladem pro trvalé zlepšování bezpečnosti potravin (Lindhahl et Grace, 2015).

#### *Globalizovaný svět*

Dříve tradičně uplatňovaný systém lokální produkce a distribuce většiny potravin je již dlouhou řadu let do různé míry zastoupen systémem globalizovaného systému zásobování (Chase, 2015).

S globalizací obchodu s potravinami se extrémně zvětšují vzdálenosti, které musí potraviny překonávat na cestě od producenta ke konzumentovi (Nyachuba, 2010). Rozsáhlé distribuční systémy zvyšují potenciál pro rychlé a široké rozšíření kontaminovaných produktů, dříve geograficky víceméně ohraničených. Struktura globálních potravinových řetězců se stává čím dál komplexnější, rozsah možných alimentárních onemocnění či skandálů je tak již dlouho otázkou mezinárodní bezpečnosti potravin (Mørkbak et al., 2011). Kontaminace potraviny v jednom státě může vážně ovlivnit veřejné zdraví a ekonomickou situaci v jiných státech. Hallman (2013) uvádí, že standardy kvality a bezpečnosti jednotlivých kultur, regionů, států, které jsou součástí dodavatelského řetězce, se mohou odlišovat a dodává, že s komplexností řetězců se potenciálně zvyšuje jejich anonymita a naopak snižuje přehlednost, event. v mnoha případech i sledovatelnost. Udržení kvality a bezpečnosti potravin se tak stává velmi náročným úkolem (Aung et Chang, 2014).

Globalizace obchodu s potravinami současně představuje mnoho výhod pro konzumenty, neboť zajišťuje širší škálu vysoce kvalitních potravin, které jsou přístupné, cenově dostupné a splňují soudobé náročné požadavky konzumentů. Obchod se stává čím dál silněji orientovaným na zákazníka. Globalizovaný obchod také poskytuje ekonomické příležitosti pro exportující země a umožňuje tím jejich rozvoj a zlepšení životního standardu mnoha lidí.

Nicméně tyto změny také představují nové výzvy pro bezpečnou produkci a distribuci potravin a bylo prokázáno, že mohou mít dalekosáhlé dopady na zdraví.

#### *Mění se klima*

Klimatické změny a globální oteplování jsou palčivými tématy, která jsou v zájmu všech oblastí bádání, bezpečnost potravin nevyjímaje. Předpokládá se, že zemědělství a produkce potravin mohou být v budoucnu těmito změnami postiženy nejvíce. S měnícím se klimatem se mění i prostředí, původci a hostitelé, což může ovlivnit cesty kontaminace potravin, schopnost přežívání patogenů a také stabilitu potravin a krmiv (Koluman et al., 2017).

Lze očekávat, že nárůst teploty a změny ve srážkových parametrech v kombinaci s rozdíly ve stravovacích návycích mohou přispívat k zvýšené incidenci alimentárních onemocnění. Semenza et Menne (2009) uvádí, že zhruba třetina případů salmonelózy v Anglii, Walesu, Polsku, Nizozemí, ČR a Švýcarsku je spojena s vyššími teplotami. Vyšší incidence se týká i kamylobakterií a verotoxigenní kolibacilózy.

Globální oteplování může zvyšovat také incidenci onemocnění zvířat a zvyšovat tepelný stres, což může vést k zhoršení produktivity s následnými socio-ekonomickými dopady (Klinedinst et al., 1993).

Se změnami teploty a srážek se mění i škála škůdců rostlin a zvyšuje se spotřeba pesticidů (Tirado et al., 2010), které navíc nemusí být v nových zemědělských podmínkách dostatečně účinné nebo mohou být rychleji degradovány. Může docházet k jejich nadužívání nebo zneužívání následované kontaminací prostředí, která povede ke zvýšení reziduí těchto látek v potravinách.

## 4 ZÁVĚREČNÁ SHRNUÍ A SMĚRY DALŠÍHO VÝZKUMU

### **Vybrané faktory ovlivňující profil mastných kyselin mléčného tuku**

Ovlivňování profilu FA mléčného tuku pomocí vnějších a vnitřních faktorů, za účelem zvýšení zastoupení FA, které mají příznivé účinky na lidské zdraví, nebo které jsou výhodné z hlediska technologického zpracování mléka, je nosným tématem celé řady studií. Zatímco vliv výživy na profil FA je relativně dobře prozkoumán, studium vnitřních faktorů je mnohem náročnější a výsledky jsou často nekonzistentní. Z biologických faktorů má na profil FA největší vliv stadium laktace, které je úzce spjato s metabolickým statutem dojnice. Významnou roli proto hraje též individualita dojnic. Z těchto důvodů se výzkum aktuálně zaměřuje na polymorfismus genů souvisejících se složením mléčného tuku.

Přínosem do budoucnosti by se mohly stát rozsáhlé studie sledující problematiku FA s využitím genetických parametrů jako je dědivost či vzájemné vztahy složek mléka a mastných kyselin. Problematikou, kterou je třeba nadále prohlubovat, jsou dále možnosti využití profilu FA coby indikátorů metabolického stavu a zdravotních problémů dojnic.

### ***Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* v potravinovém řetězci**

Vzhledem k širokému výskytu paratuberkulózy v chovech dojeného skotu ve většině rozvinutých zemí je i přítomnost MAP v mléčném řetězci vysoce pravděpodobná. Ačkoliv spojitost mezi tímto patogenem a některými autoimunitními poruchami u lidí, především Crohnovou nemocí, je řadou studií potvrzována, nejde o spojitost kauzální. Komplexní interakce mnoha faktorů, které jsou dnes označovány za etiopatologický základ Crohnovy nemoci, by však mohly být vyvolány i přítomností MAP v mléce a mléčných výrobcích. Uvádí se i zvýšené riziko u imunologicky kompromitovaných jedinců. Zcela nesporná je potřeba soustředit se na postupné snižování výskytu paratuberkulózy ve stádech skotu tak, jak bylo před mnoha lety plánováno. Pokud pasterizace je u většiny potravinových patogenů považována za efektivní proces, pak v případě MAP to neplatí ve všech případech a navíc je zvažována reaktivita vnímavého organismu i k inaktivovanému původci. V některých studiích jsou navrhována opatření pro jednotlivé sektory od prvovýroby po konzumenty a mezi jinými i označování mléka nápisem „*low MAP*“ nebo „*free-MAP*“. Určitým impulsem pro zodpovědné autority může být otázka stanovení maximální povolené koncentrace mykobakterií v živočišných surovinách. Skutečnost, že některé státy se již v kontrolních

programech orientují na snižování MAP v mléce, svědčí o tom, že role MAP jako potenciálního zoonotického činitele není dosud dořešena.

### **Cizorodé látky v potravinovém řetězci**

Průběžné sledování přítomnosti CL v krmivech a potravinách a rizik s tím souvisejících je nezbytné pro rozhodování o preventivních opatřeních. Ta nejsou určena pouze k ochraně spotřebitele, potažmo ochrany veřejného zdraví (dnes zejména stoupající rezistence k antimikrobiálním látkám). Neméně důležitá je ochrana biosféry, protože rezidua se dostávají do životního prostředí, kde se mohou různě dlouhou dobu kumulovat a s ohledem k jejich biologické aktivitě mohou, a to i ve velmi nízkých množstvích, způsobovat různé změny, jejichž dopady si zatím lze jen těžko představit. Takovým mementem pro naši generaci je příklad DDT, které je kvůli neuváživému používání v 50. – 60. letech minulého století dosud prokazováno v životním prostředí i v surovinách a potravinách živočišného původu.

Zdravotní rizika plynoucí z CL v potravinách pravděpodobně nikdy zcela nezmizí, neboť vznikají nové poznatky o toxicitě některých látek a jsou prokazovány zcela nové látky s potenciální toxicitou pro lidi. Tím hlavním je ovšem udržovat přítomnost těchto látek na bezpečné úrovni tak, aby riziko pro lidské zdraví bylo zcela zanedbatelné nebo dokonce žádné.

### **Klamání zákazníků jako neblahý jev v rámci potravinového řetězce**

Vzhledem ke své vysoké nutriční hodnotě tvoří mléko a mléčné výrobky důležitou součást stravy pro podstatnou část lidské populace. Vysoká celosvětová poptávka po těchto potravinách je však zároveň činí zranitelnými k nejrůznějším podvodům. Přestože systém zabezpečení mléčného řetězce je v naší zemi na vysoké úrovni a výskyt klamavého jednání ve vztahu k mléčným výrobkům je relativně nízký, průběžný dohled ze strany kontrolních institucí je nezbytný. Za nejčastěji zjišťované způsoby klamání spotřebitelů lze označit pozměňování informací ať již na samotném obalu výrobků nebo na regálových štítcích v obchodní síti. Primární pohnutka těchto jednání je převážně ekonomického rázu, kdy obchodník se snaží prodat zboží, např. s končící spotřební lhůtou, nebo tím, že klamně zvyšuje jeho atraktivitu. Na druhou stranu lze však takové jednání označit i za poněkud krátkozraké. Spotřebitel se totiž zejména poslední dobou, v reakci na četné potravinové kauzy a skandály, může cítit více ohroženým. Výsledkem pak může být třeba i ztráta důvěry ke konkrétnímu výrobku

nebo obchodníkovi, což je řadou mediálně proběhnutých potravinových kauz v posledních letech více než doloženo.

### **Chování spotřebitelů coby koncových článků potravinového řetězce**

V posledních letech se v ČR, ale i dalších evropských státech zvýšil zájem o konzumaci syrového mléka. Tento nový trend odráží mj. i nové postoje spotřebitelů, kteří jsou více orientováni na nákup minimálně zpracovaných surovin a potravin. Možnost nákupu syrového mléka byla navíc podpořena i právními předpisy. Na druhou stranu je zjišťováno, že řada lidí nakupujících syrové mléko, s ním nezachází patřičným způsobem, tj. nedodržují chladírenský řetězec a/nebo neprovádějí tepelnou úpravu. Veškerá zodpovědnost tedy zůstává na samotných konzumentech, kteří by měli zvážit potenciální benefity, ale i rizika spojená s konzumací syrového mléka. Pro adekvátní rozhodování je ovšem nezbytná i dostatečná informovanost, je proto třeba poskytovat spotřebitelům pravidelné informace o možných rizicích, a to pokud možno formou a prostředky, které jsou relevantní dnešní době, různým věkovým i zájmovým skupinám.

## 5 POUŽITÁ LITERATURA

- Abe, K., Yamamoto, S., Shinagawa, K. Economic impact of an *Escherichia coli* O157:H7 outbreak in Japan. *J. Food Prot.* 2002, 65, 66-72.
- Afzal, A., Mahmood, M. S., Hussain, I., Akhtar, M. Adulteration and microbiological quality of milk (a review). *Pakist. J. Nutr.* 2011, 10, 1195-1202.
- Agata, N. Ohta, M., Yokoyama, K. Production of *Bacillus cereus* emetic toxin (cereulide) in various foods. *Int. J. Food Microbiol.* 2002, 73, 23-27.
- Acharya, K.R., Dhand, N.K., Whittington, R.J., Plain, K.M. Detection of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in powdered infant formula using IS900 quantitative PCR and liquid culture media. *Int. J. Food Microbiol.* 2017, 257, 1-9.
- Albuquerque, P.P., Santos, A.S., Souza Neto, O. L., Kim, P. C., Cavalcanti, E. F., Oliveira, J. M., Mota, R.A., Júnior, J.W. Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in bovine milk from the state of Pernambuco, Brazil. *Braz. J. Microbiol.* 2017, 48, 113–117.
- Alonso-Hearn, M., Molina, E., Geijo, M., Vazquez, P., Sevilla, I., Garrido, J. M., Juste, R. A. Isolation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* from muscle tissue of naturally infected cattle. *Foodborne Pathog. Dis.* 2009, 6, 513-518.
- Altekruse, S.F., Stern, N.J., Fields, P.I., Swerdlow, D.L. *Campylobacter jejuni* – An emerging foodborne pathogen. *Emerg. Inf. Dis.* 1999, 5, 28-35.
- Amemori, T., Matlova, L., Fischer, O.A., Ayele, W.Y., Machackova, M., Gopfert, E., Pavlik, I. Distribution of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in the gastrointestinal tract of shedding cows and its application to laparoscopic biopsy. *Vet. Med.* 2004, 49, 225–236.
- Antognoli, M.C., Garry, F.B., Hirst, H.L., Lombard, J.E., Dennis, M.M., Gould, D.H., Salman, M.D. Characterization of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* disseminated infection in dairy cattle and its association with *antemortem* test results. *Vet. Microbiol.* 2008, 127, 300-308.
- Arfuso, F., Fazio, F., Levanti, M., Rizzo, M., Di Pietro, S., Giudice, E., Piccione, G. Lipid and lipoprotein profile changes in dairy cows in response to late pregnancy and the early postpartum period. *Arch. Anim. Breed.* 2016, 59, 429–434.
- Argudin, M. A., Mendoza, M. C., Rodicio, M. R., 2010: Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Toxins* 2010, 2, 1751–1773.
- Arnesen, L.P. S., Fagerlund, A., Granum, P.E. From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS Microbiol. Rev.* 2008, 32, 579-606.
- Aroora S, Sharma V, Raj D, Ram M and Kishore K. Status of milk adulteration in some states of North India. *Indian J. Dairy Sci* 2004, 57:65–66.
- Artegoitia, V., Meikle, A., Olazabal, L., Damian, J.P., Adrien, M.L., Mattiauda, D.A., Bermudez, J., Torre, A., Carriquiry, M. Milk casein and fatty acid fractions in early lactation are affected by nutritional regulation of body condition score at the beginning of the transition period in primiparous and multiparous cows under grazing conditions. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 2013, 97, 919–932.
- Auldish, M.J., Walsh, B.J., Thomson, N.A. Seasonal and lactational influences on bovine milk composition in New Zealand. *J. Dairy Res.* 1998, 65, 401–411.
- Aung, M.M., Chang, Y.S. Traceability in a food supply chain: Safety and quality perspectives. *Food Control* 2014, 39, 172-184.
- Ayele, W.Y., Svastova, P., Roubal, P., Bartos, M., Pavlik, I. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* cultured from locally and commercially pasteurized cow's milk in the Czech Republic. *Appl. Environ. Microbiol.* 2005, 71, 1210-1214.

- Ayele, W.Y., Bartos, M., Svastova, P., Pavlik, I. Distribution of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in organs of naturally infected bull-calves and breeding bulls. *Vet. Microbiol.* 2004, 103, 209–217.
- Barber, M.C., Clegg, R.A., Travers, M.T., Vernon, R.G. Lipid metabolism in the lactating mammary gland. *Biochim. Biophys. Acta* 1997, 1347, 101-126.
- Bastin, C., Soyeurt, H., Vanderick, S., Gengler, N. Genetic relationships between milk fatty acids and fertility of dairy cows. *Interbull Bull.* 2011, 44, 1–5.
- Bauman, D.E., Mather, I.H., Wall, R.J., Lock, A.L. Major advances associated with the biosynthesis of milk. *J. Dairy Sci.* 2006, 89, 1235–1243.
- Bauman, D.E., Griinari, J.M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annu. Rev. Nutr.* 2003, 23, 203-227.
- Bauman, D.E., Griinari, J.M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. *Livest. Prod. Sci.* 2001, 70, 15-29.
- Belitz, H.- D., Grosch, W., Schieberle, P. Food chemistry. Berlin, Germany: Springer. 2009, pp. 988, ISBN 9783540699330.
- Belloque, J., Chicón, R., Recio, I. Quality Control. 72-100, In: Milk Processing and Quality Management. Tamime A. Y., 1. United Kingdom: Blackwell Publishing, 2009, 324 ss. ISBN 978-1-405 - 1 4530-5.
- Belury, M. A. Dietary conjugated linoleic acid in health: Physiological effects and mechanisms of action. *Annu. Rev. Nutr.* 2002, 22, 505–531.
- Beran, V., Havelkova, M., Kaustova, J., Dvorska, L., Pavlik, I. Cell wall deficient forms of mycobacteria: a review. *Vet. Med.* 2006, 51, 365-389.
- Beránek, M., Petrlík, J. POPs pesticides in the Czech Republic. *Technic. Report – The International POPs Elimination Project* 2005, 21 ss.
- Berry-Caban, C.S. DDT and silent spring: fifty years after – review article. *J. Mil. Veterans Health*, 2011, 19, 19-24.
- Bianchini, V., Borella, L., Benedetti, V., Parisi, A., Miccolupo, A., Santoro, E., Recordati, C., Luini, M. Prevalence in bulk tank milk and epidemiology of *Campylobacter jejuni* in dairy herds in Northern Italy. *Appl. Environ. Microbiol.* 2014, 80, 1832–1837.
- Botsaris, G., Swift, B.M.C., Slana, I., Liapi, M., Christodoulou, M., Hatzitofi, M., Christodoulou, V., Rees, C.E.D. Detection of viable *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in powdered infant formula by phage-PCR and confirmed by culture. *Int. J. Food Microbiol.* 2016, 216, 91–94.
- Bradner, L., Robbe-Austerman, S., D. C. Beitz, D.C., Stabel, J.R. Chemical decontamination with N-acetyl-L-cysteine-sodium hydroxide improves recovery of viable *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* organisms from cultured milk. *J. Clin. Microbiol.* 2013, 51, 2139–2146.
- Brady, C., O’Grady, D., O’Meara, F., Egan, J., Bassett, H. Relationships between clinical signs, pathological changes and tissue distribution of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in 21 cows from herds affected by Johne’s disease. *Vet. Rec.* 2008, 162, 147-152.
- Brenna J.T., Salem N.Jr., Sinclair A.J., Cunnaned S.C.:  $\alpha$ -Linolenic acid supplementation and conversion to n-3long-chain polyunsaturated fatty acids in humans. *PLEFA* 2009, 2-3, 85-91.
- Bretveld, R.W., Thomas, Ch.M.G., Scheepers, P.T.J. Zielhuis, G.A., Roeleveld, N. Pesticide exposure: the hormonal function of the female reproductive system disrupted? *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2006, 4, 1-14.
- Buccioni, A., Decandia, M., Minieri, S., Molle, G., Cabiddu, A. Lipid metabolism in the rumen: New insights on lipolysis and biohydrogenation with an emphasis on the role of endogenous plant factors. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2012, 174, 1-25.
- Busby, J. C., Roberts, T. ERS estimates U.S. foodborne disease costs. *J. Food Rev.* 1995, 18, 37.

- Capuano, E., Rademaker, J., van den Bijgaart, H., van Ruth, S. M. Verification of fresh grass feeding, pasture grazing and organic farming by FTIR spectroscopy analysis of bovine milk. *Food Res. Int.* 2014, 60, 59-65.
- Capuano, E., van Ruth, S.M. Fraud control for foods and other biomaterials by product fingerprinting”, in Akyar, I. (Ed.), Latest Research into Quality Control, InTech, Rijeka, 2012, 111-143.
- Cavestany, D., Blanc, J.E., Kulcsar, M., Uriarte, G., Chilbroste, P., Meikle, A., Febel, H., Ferraris, A., Krall, E. Studies of the transition cow under a pasture-based milk production system: Metabolic profiles. *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.* 2005, 52, 1–7.
- CDC - Centers for Disease Control and Prevention. *Salmonella* dublin and raw milk consumption--California. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 1984, 33, 196-198.
- CDC - Centers for Disease Control and Prevention. Multistate outbreak of *Salmonella* serotype typhimurium infections associated with drinking unpasteurized milk-Illinois, Indiana, Ohio, and Tennessee, 2002-2003. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2003, 52, 613-615.
- CDC - Centers for Disease Control and Prevention. *Salmonella* typhimurium infection associated with raw milk and cheese consumption—Pennsylvania. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2007, 56, 1161-1164.
- CDC - Centers for Disease Control and Prevention. Outbreak of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Newport infections associated with consumption of unpasteurized Mexican-style aged cheese--Illinois, March 2006-April 2007. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2008, 57, 432-435.
- CDC - Centers for Disease Control and Prevention. Surveillance for foodborne disease outbreaks United States, 2016: Annual report. National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases. 2016, 1-19. Dostupné z: <https://www.cdc.gov/fdoss/annual-reports/index.html>
- Clark, D.L., Anderson, J.L., Koziczkowski, J.J., Ellingson, J.L.E. Detection of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* genetic components in retail cheese curds purchased in Wisconsin and Minnesota by PCR. *Moll. Cell Probes.* 2006, 20, 197-202.
- Clavel, T., Carlin, F., Lairon, D., Schmitt, P. Survival of *Bacillus cereus* spores and vegetative cells in acid media stimulating human stomach. *J. App. Microbiol.* 2004, 97, 214-219.
- Cody, S.H., Abbott, S.L., Marfin, A.A., Schulz, B., Wagner, P., Robbins, K., Mohle-Boetani, J.C., Vugia, D.J. Two outbreaks of multidrug-resistant *Salmonella* serotype typhimurium DT104 infections linked to raw-milk cheese in Northern California. *JAMA* 1999, 281, 1805-1810.
- Cohn, B.A., Wolff, M.S., Cirillo, P.M., Sholtz, R.I. DDT and breast cancer in young women: new data on the significance of age at exposure. *Environ. Health Perspect.* 2007, 115, 1 406–1 414.
- Cooper, G.S., Martin, S.A., Longnecker, M.P., Sandler, D.P. and Germolec, D.R. Associations between plasma DDE levels and immunologic measures in African-American farmers in North Carolina. *Environ. Health Perspect.* 2004, 112, 1 080–1 084.
- Corti, S., Stephan, R. Detection of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* specific IS900 insertion sequences in bulk-tank milk samples obtained from different regions throughout Switzerland. *BMC Microbiol.* 2002, 2, 15-21.
- Cosivi, O., Grange, J.M., Daborn, C.J., Raviglione, M.C., Fujikura, T., Cousins, D., Robinson, R.A., Huchermeyer, H.F.A.K., De Kantor I., Meslin F.-X. Zoonotic tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in developing countries. *Emerg. Infect. Dis.* 1998, 4, 59-70.
- Cossu, D., Cocco, E., Paccagnini, D., Masala, Ahmed, N., Frau, J., Marrosu, M.G., Sechi, L.A. Association *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* with multiple sclerosis in Sardinian patients. *PLoS One* 2011, 6, 18482.
- Cozma, A., Miere, D., Filip, L., Andrei, S., Banc, R., Loghin, F. A review of the metabolic origins of milk fatty acids. *Not. Sci. Biol.* 2013, 5, 270-274.
- Craninx, M., Steen, A., Van Laar, H., Van Nespen, T., Martin-Tereso, J., De Baets, B., Fievez, V. Effect of lactation stage on the odd- and branched-chain milk fatty acids of dairy cattle under grazing and indoor conditions. *J. Dairy Sci.* 2008, 91, 2662-2677.



- Čížková, H., Ševčík, R., Rajchl, A., Pivoňka, J., Voldřich, M. Trends in food authenticity and detection of food adulteration. *Chem. Listy* 2012, 106, 903-910.
- Dadar, M., Shahali, Y., Whatmore, A.M. Human brucellosis caused by raw dairy products: A review on the occurrence, major risk factors and prevention. *Int. J. Food Microbiol.* 2019, 292, 39-47.
- Davis, K.R., Dunn, A.C., Burnett, C., McCullough, L., Dimond, M., Wagner, J., Smith, L., Carter, A., Williardson, S., Nakashima, A.K. *Campylobacter jejuni* infections associated with raw milk consumption – Utah, 2014. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2016, 65, 301-305.
- de la Fuente, M. A., Juárez, M. Authenticity assessment of dairy products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2005, 45, 563–85.
- de la Rua-Domenech, R. Human *Mycobacterium bovis* infection in the United Kingdom: Incidence, risks, control measures and review of the zoonotic aspects of bovine tuberculosis. *Tuberculosis* 2006, 86, 77–109.
- De Valk, H., Delarocque-Astagneau, E., Colomb, G., Ple, S., Godard, E., Vailant, V., Haeghebaert, S., Bouvet, P.H., Grimont, F., Grimont, P., Desenclos, J.C. A community--wide outbreak of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium infection associated with eating a raw milk soft cheese in France. *Epidemiol. Infect.* 2000, 124, 1–7.
- Dewhurst, R.J., Fisher, W.J., Tweed, J.K.S., Wilkins, R.J. Comparison of grass and legume silage for milk production. 1. Production responses with different levels of concentrate. *J. Dairy Sci.* 2003, 86, 2598-2611.
- Do Carmo, L.S., Cummings, C., Linardi, V.R., Souza Diaz, R., De Souza, J.M., De Sena, M.J., Dos Santos, D.A., Shupp, J.W., Peres Pereira, R.K., Jett, M. (2004) A case study of a massive staphylococcal food poisoning incident. *Foodborne Pathog. Dis.* 2004, 1, 241–246.
- Dominguez, M., Jourdan-Da Silva, N., Vaillant, V., Pihier, N., Kermin, C., Weill, F.X., Delmas, G., Kerouanton, A., Brisabois, A., de Valk, H. Outbreak of *Salmonella enterica* serotype Montevideo infections in France linked to consumption of cheese made from raw milk. *Foodborne Pathog. Dis.* 2009, 6, 121-128.
- Doreau, M., Ferlay, A. Digestion and utilisation of fatty acids by ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 1994, 45, 379-396.
- Dow, C.T. *Mycobacterium paratuberculosis* and autism: is this a trigger? *Med. Hypotheses.* 2011, 77, 977-981.
- Dow, C.T., Ellingson, J.L. Detection of *Mycobacterium avium* ss. *paratuberculosis* in blau syndrome tissues. *Autoimmune. Dis.* 2010, 20, 127692.
- Drackley, J.K. Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier? *J. Dairy Sci.* 1999, 82, 2259–2273.
- Dufour, S., Dohoom I.R., Barkemam, H.W., Descôteaux, L., Devries, T.J., Reyher, K.K., Roy, J.P., Scholl, D.T. Manageable risk factors associated with the lactational incidence, elimination, and prevalence of *Staphylococcus aureus* intramammary infections in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2012, 95, 1283-300.
- Dundee, L., Grant, I.R., Ball, H. J., Rowe, M.T. Comparative evaluation of four decontamination protocols for the isolation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* from milk. *Lett. Appl. Microbiol.* 2001, 33:173–177.
- EFSA. Raw drinking milk: what are the risks? [online]. © European Food Safety Authority. 2015a [cit. 2019-2-20]. Dostupne z: <http://www.efsa.europa.eu/en/press/news/150113>.
- EFSA. Scientific opinion on the public health risks related to the consumption of raw drinking milk. *EFSA Journal*, 2015b, 13, 3940, 95 pp.
- EFSA. Food borne outbreaks [online]. © European Food Safety Authority. 2019 [cit. 2019-2-15]. Dostupne z: <https://www.efsa.europa.eu/en/microstrategy/food-borne-outbreaks>.
- Ehling-Schulz, M., Fricker, M., Scherer, S. *Bacillus cereus*, the causative agent of an emetic type of food-borne illness. *Mol. Nutr. Food Res.* 2004, 48, 479 – 487.

- Ellingson, J.L., Anderson, J.J., Koziczowski, J.J., Radcliff, R.P., Sloan, S.J., Allen, S.E., Sullivan, N.M. Detection of viable *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in retail pasteurized whole milk by two culture methods and PCR. *J. Food Prot.* 2005, 68, 966-972.
- El-Baz, A.H., El-Sherbini, M., Abdelkhalek, A., Al-Ashmawy, M.A. Prevalence and molecular characterization of *Salmonella* serovars in milk and cheese in Mansoura city, Egypt. *J. Adv. Vet. Anim. Res.* 2017, 4, 45-51.
- Epstein, L. Fifty years since Silent Spring. *Annu. Rev. Phytopathol.* 2014, 52, 377-402.
- Eskenazi, B., Marks, A.R., Bradman, A., Fenster, L., Johnson, C., Barr, D.B., Jewell, N.P. In utero exposure to dichlorophenyltrichloroethane and dichlorodiphenyldichloroethylene and neurodevelopment among young Mexican American children. *Pediatrics* 2006, 118, 233-241.
- Espescht, I.F., Carvalho, I.A., Oliveira, J.F., Souza, M.C.C., Valêncio, A., Ferrari, M.L.A., Moreira, M.A.S. Risk factors for the presence of *Mycobacterium avium* spp. *paratuberculosis* in human intestinal biopsies in Brazil. *Austin J. Gastroenterol.* 2017; 4, 1083.
- Erkmen, O., Bozoglu, F. Principles of food spoilage. 269-279, In: *Food Microbiology: Principles Into Practice*. Erkmen O., Bozoglu F. (Eds.), USA: Wiley and sons, 2016, pp. 431, ISBN: 978-1-119-23776-1.
- Faria, A.C.S., Schwarz, D.G.G., Carvalho, I.A., Rocha, B.B., De Carvalho Castro, K.N., Silva, M.R., Moreira, M.A.S. Short communication: Viable *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in retail artisanal Coalho cheese from Northeastern Brazil. *J. Dairy Sci.* 2014, 97, 1-4.
- Feller, M., Huwiler, K., Stephan, R., Altpeter, E., Shang, A., Furrer, H., Pfyffer, G.E., Jemmi, T., Baumgartner, A., Egger, M. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* and Crohn's disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect. Dis.* 2007, 7, 607-613.
- Ferlay, A., Martin, B., Pradel, P., Coulon, J.B., Chilliard, Y. Influence of grass-based diets on milk fatty acid composition and milk lipolytic system in tarentaise and Montbeliarde cow breeds. *J. Dairy Sci.* 2006, 89, 4026-4041.
- Ferlay, A., Martin, B., Lerch, S., Gobert, M., Pradel, P., Chilliard, Y. Effects of supplementation of maize silage diets with extruded linseed, vitamin E and plant extracts rich in polyphenols, and morning v. evening milking on milk fatty acid profiles in Holstein and Montbeliarde cows. *Animal* 2010, 4, 627-640.
- Fievez, V., Colman, E., Castro-Montoya, J. M., Stefanov, I., Vlaeminck, B. Milk odd- and branched-chain fatty acids as biomarkers of rumen function-An update. *Anim. Feed Sci. Tech.* 2012, 172, 51-65.
- Finete, V. D. L. M., Gouvêa, M. M., de Carvalho Marques, F. F., Netto, A. D. P. Is it possible to screen for milk or whey protein adulteration with melamine, urea and ammonium sulphate, combining Kjeldahl and classical spectrophotometric methods? *Food Chem.* 2013, 141, 3649-3655.
- Finlay, W.J., Logan, N.A., Sutherland, A.D. *Bacillus cereus* produces most emetic toxin at lower temperatures. *Lett. Appl. Microbiol.* 2000, 31, 385-389.
- Fiore, E., Piccione, G., Gianesella, M., Pratico, V., Vazzana, I., Dara, S., Morgante, M. Serum thyroid hormone evaluation during transition periods in dairy cows. *Arch. Anim. Breed.* 2015, 58, 403-406.
- Food Chemical Codex. Appendix XVII: Guidance on Food Fraud Mitigation, © 2015 The United States Pharmacopeial Convention, 2053-2088. Dostupné z: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.738.3371&rep=rep1&type=pdf>.
- Foster, G., Osterman, S.B., Godfroid, J., Jacques, I., Cloeckert, A. *Brucella ceti* sp. nov. and *Brucella pinnipedialis* sp. nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2007, 57, 2688-2693.
- Frenzen, P.D. An online cost calculator for estimating the economic of illness due to shiga toxin producing *E. coli* (STEC) O157 infections. Economic Research Service/USDA. 2007. Dostupné z: <https://ageconsearch.umn.edu/bitstream/59022/2/EIB28.pdf>
- Frenzen, P.D., Drake, A., Angulo, F.J. Economic Cost of Illness due to *Escherichia coli* O157 Infections in the United States. *J. Food Prot.* 2005 68, 2623-2630.

- Gallivan, M., Shan, N., Flood, J. Epidemiology of human *Mycobacterium bovis* disease, California, USA, 2003-2011. *Emerg. Infect. Dis.* 2015, 21, 435-443.
- Gao, A., Mutharia, L., Chen, S., Rahn, K., Odumeru, J. Effect of pasteurization on survival of *Mycobacterium paratuberculosis* in milk. *J. Dairy Sci.* 2002, 85, 3198-3205.
- Garnsworthy, P.C., Masson, L.L., Lock, A.L., Mottram, T.T. Variation of milk citrate with stage of lactation and de novo fatty acid synthesis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2006, 89, 1604–1612.
- Garvey, M. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*: A possible causative agent in human morbidity and risk to public health safety. *Open Vet J.* 2018, 8, 172–181.
- German J., Gibson R., Krauss R., Nestel P., Lamarche B., van Staveren W., Steijns J., de Groot L., Lock A., Destaillets F. A reappraisal of the impact of dairy foods and milk fat on cardiovascular disease risk. *Eur. J. Nut.* 2009, 48, 191-203.
- Giese, S.B., Ahrens, P. Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in milk from clinically affected cows by PCR and culture. *Vet. Microbiol.* 2000, 77, 291-297.
- Glasser, F., Doreau, M., Ferlay, A., Chilliard, Y.. Technical note: Estimation of milk fatty acid yield from milk fat data. *J. Dairy Sci.* 2007, 90, 2302–2304.
- Gómez-Cortés, P., Juárez, M., de la Fuente, M.A. Milk fatty acids and potential health benefits: An updated vision. *Trends Food Sci. Technol.* 2018, 81, 1-9.
- Gopal, N., Hill, C., Ross, P.R., Beresford, T.P., Fenelon, M.A., Cotter, P.D. The prevalence and control of *Bacillus* and related spore-forming bacteria in the dairy industry. *Front. Microbiol.* 2015, 6, 1418.
- Gottardo, P., Penasa, M., Righi, F., Lopez-Villalobos, N., Cassandro, M., De Marchi, M. Fatty acid composition of milk from Holstein-Friesian, Brown Swiss, Simmental and Alpine Grey cows predicted by mid-infrared spectroscopy. *Ital. J. Anim. Sci.* 2017, 16, 380–389.
- Grange, J.M. *Mycobacterium bovis* infection in human beings. *Tuberculosis* 2001, 81, 71-77.
- Grant, I.R. *Mycobacterium avium* ssp. *Paratuberculosis* in foods: current evidence and potential consequences. *Int. J. Dairy Tech.* 2006, 59, 112–117.
- Grant, I.R., Williams, A.G., Rowe, M.T., Muir, D.D. Efficacy of various pasteurization time-temperature conditions in combination with homogenization on inactivation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in milk. *Appl. Env. Microbiol.* 2005, 71, 2853–2861.
- Grant, I.R., Hitchings, E.I., McCartney, A., Ferguson, F., Rowe, M.T. Effect of commercial-scale high-temperature, short-time pasteurization on the viability of *Mycobacterium paratuberculosis* in naturally infected cows' milk. *Appl. Env. Microbiol.* 2002, 68, 602–607.
- Grant, I.R., Ball, H.J., Rowe, M.T. Incidence of *Mycobacterium paratuberculosis* in bulk raw and commercially pasteurized cows' milk from approved dairy processing establishments in the United Kingdom. *App. Environ. Microbiol.* 2002, 68, 2428-2435.
- Grant, I.R., Rowe, M.T., Dundee, L., Hitchings, E. *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis*: its incidence, heat resistance and detection in milk and dairy products. *Int. J. Dairy Tech.* 2001, 54, 2–13.
- Granum, P.E. *Bacillus cereus*. In: Doyle, M.P. et al. (Eds.), Food microbiology: Fundamentals and frontiers, ASM Press Washington, DC, 2001, pp. 373-381.
- Greenstein, R.J. Is Crohn's disease caused by a mycobacterium? Comparisons with leprosy, tuberculosis, and Johne's disease. *Lancet Infect. Dis.* 2003, 3, 507-214.
- Gross, J., van Dorland, H.A., Bruckmaier, R.M., Schwarz, F.J. Milk fatty acid profile related to energy balance in dairy cows. *J. Dairy Res.* 2011, 78, 479–488.
- Grummer, R.R., Mashek, D.G., Hayirli, A. Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Vet. Clin. N. Am.-Food Anim. Pract.* 2004, 20, 447–470.
- Guo, J., Astrup, A., Lovegrove, J. A., Gijssbers, L., Givens, D. I., Soedamah-Muthu, S. S. Milk and dairy consumption and risk of cardiovascular diseases and all-cause mortality: Dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *Eur. J. Epidemiol.* 2017, 32, 269–287.

- Hallman, W.K. Motivating Consumers to Respond Appropriately to Food Recalls. [online]. [cit. 2019-23-2]. Dostupné z: <http://jifsan.umd.edu/images/wordpress/2013/10/12-William-Hallman.pdf>.
- Hamer, H. M., Jonkers, D., Venema, K., Vanhoutvin, S., Troost, F. J., Brummer, R. J. Review article: The role of butyrate on colonic function. *Aliment. Pharm. Ther.* 2008, 27, 104–119.
- Hammer, P. *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* in milk: risk considerations. *Kiel. Milchwirtsch. Forschungsber.* 2007, 59, 209-225.
- Handford, C.E., Campbell, K., Elliott, T. Impacts of milk fraud on food safety and nutrition with special emphasis on developing countries. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2016, 15, 130-142.
- Hantsis-Zacharov, E., Halpern, M. Culturable psychrotrophic bacterial communities in raw milk and their proteolytic and lipolytic traits. *Appl. Env.Microbiol.* 2007, 22, 7162-7168.
- Harfoot, C.G., Hazlewood, G.P. Lipid metabolism in the rumen, 382-426 p. In: Hobson P.N., Stewart C.S. (Eds.). *The rumen microbial ecosystem*. Blackie Academic & Professional, London, UK. 1997.
- Harpaz, R., Dahl, R., Dooling, K. The Prevalence of Immunocompromised Adults: United States, 2013. *Open Forum Inf. Dis.* 2016, 3, 1439.
- Harvey, R. A., Ferrier, D. R. Lippincott's illustrated reviews: Biochemistry 5th ed. Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins, 2011, ISBN 978-1-60831-412-6.
- Harvey, R.B., Droleskey, R.E., Sheffield, C.L., Edrington, T.S., Callaway, T.R., Anderson, R.C., Drinnon, D.L.J., Ziprin, R.L., Scott, H.M., Nisbet, D.J. *Campylobacter* prevalence in lactating dairy cows in the United States. *J. Food Prot.* 2004, 67, 1476-1479.
- Hasoňová, L. Význam paratuberkulózy u dojeného skotu. Disertační práce ZF JU v ČB, 120 ss., 2009.
- Hasoňová, L. Potenciální zdravotní rizika konzumace mléka a mléčných výrobků. 17-25 s. In *Mléko: produkce a kvalita*. (Samková et al., Eds.). Vědecká monografie, 1. vyd., České Budějovice: JU ZF, 2012, 240 ss., ISBN 978-80-7394-383-7.
- Hasoňová, L., Beerová, M., Samková, E. Chováme se k mléku správně? Průzkum spotřebitelského chování při zacházení se syrovým kravským mlékem. *Mlékařské listy* 2016, 27, 13-18.
- Hasoňová, L., Beerová, M., Samková, E., Klimešová, M., Kala, R. Změny v hodnotách celkového počtu mikroorganismů při skladování syrového kravského mléka. *Mlékařské listy* 2017, 28, 1-3.
- Hasonova, L., Pavlik, I. Economic impact of paratuberculosis in dairy cattle herds: a review. *Vet. Med.* 2006, 51, 193-211.
- Hasoňová, L., Samková, E., Joklová, V., Jůzl, M. Sýry a analogové výrobky: dotazníkový průzkum. *Mlékařské listy*, 2012, 134, 6-10.
- Hasoňová, L., Samková, E., Vočadlova, K., Straková, K. Od Pasteura zpět? Aneb tepelné ošetření mléka a jeho význam. *Výživa a potraviný* 2018, 5, 114-117.
- Hasonova, L., Trcka, I., Babak, V., Rozsypalova, Z., Pribylova, R., Pavlik, I. Distribution of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in tissues of naturally infected cattle as affected by age. *Vet. Med.* 2009, 54, 6, 257-269.
- Havelaar, A.H., de Wit, M.A.S., van Koningsveld, R., van Kempen, E. Health burden in the Netherlands due to infection with thermophilic *Campylobacter* spp. *Epidemiol. Infect.* 2000, 125, 505-522.
- Helland I., Smith L., Saarem K., Saugstad O., Drevon C. Maternal supplementation with very-long-chain n-3 fatty acids during pregnancy and lactation augemnts children's IQ at 4 years of age. *Pediatrics* 2003, 111, 39-44.
- Hermon-Taylor, J., Bull, T.J., Sheridan, J.M., Chen, J., Stellakis, M.L., Sumar, N. Causation of Crohn's disease by *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*. *Can. J. Gastroenterol.* 2000, 14, 521–539.
- Hines, M. E., Turnquist, S. E., Ilha, M.R., Rajeev, S., Jones, A.L., Whittington, L., Bannantine, J. P., Barletta, R. G., Gröhn, Y. T., Katani, R., Talaat, A. M., Li, L., Kapur, V. Evaluation of novel oral vaccine candidates and validation of a caprine model of Johne's disease. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2014, 4:26

- Hlavsa, M.C., Moonan, P.K., Cowan, L.S., Navin, T.R., Kammerer, J.S., Morlock, G.P., Crawford, J.T., Lobue, P.A. Human tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in the United States, 1995-2005. *Clin. Infect. Dis.* 2008, 47, 168-175.
- Hof, H. History and epidemiology of listeriosis. *FEMS Immun. Med. Microbiol.* 2003, 35, 199-202.
- Hoffman, S., Batz, M.B., Morris, J.G. Annual cost of illness and quality-adjusted life year losses in the United States due to 14 foodborne pathogens. *J. Food Prot.* 2012, 75, 1292-1302.
- Hochel, I. Metody detekce a charakterizace *Campylobacter* sp. *Chem. listy* 2009, 103, 814-822.
- Hoover, D.L., Friedlander, A.M. Chapter 25: Brucellosis. ss. 513-521. In: Medical Aspects of Chemical and Biological Warfare. Dembek, Z.F. Eds. 2007. Government Printing Office. Washington. 579 ss., ISBN 9780160872389
- Hruska, K., Bartos, M., Kralik, P., Pavlik, I. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in powdered infant milk: paratuberculosis in cattle – the public health problem to be solved. *Vet. Med.-Czech* 2005, 50, 327-335.
- Hruska, K., Slana, I., Kralik, P., Pavlik, I. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in powdered infant milk: F57 competitive real time PCR. *Vet. Med.* 2011, 56, 226–230.
- Hudopisk, N., Korva, M., Janet, E., Simetinger, M., Grgič-Vitek, M., Gubenšek, J., Natek, V., Kraigher, A., Strle, F., Avšič-Županc, T. Tick-borne encephalitis associated with consumption of raw goat milk, Slovenia, 2012. *Emerg. Infect. Dis.* 2013, 19, 806-808.
- Hudson, A., King, N., Lake, R., Cressey, P. Risk profile: *Campylobacter jejuni/coli* in raw milk. Ministry for Primary Industries Technical Paper No:2014/15. 2014, 77 pp., ISBN 978-0-478-43213-8.
- Humphrey, T., O'Brien, S., Madsen, M. Campylobacters as zoonotic pathogens: a food production perspective. *Int. J. Food Microbiol.* 2007, 117, 237-257.
- Humphrey, T.J., Beckett, P. *Campylobacter jejuni* in dairy cows and raw milk. *Epidem. Inf.* 1987, 98, 263-269.
- Hussain, M.A., Dawson, Ch.O. Economic impact of food safety outbreaks on food businesses. *Foods* 2013, 2, 585-589.
- Chamberlin, W.M., Naser, S.A. Integrating theories of the etiology of Crohn's disease. On the etiology of Crohn's disease: questioning the hypotheses. *Med. Sci. Monit.* 2006, 12, 27–33.
- Chase, C.G. Chemical contaminants in foods: health risks and public perception. [online]. 2015. [cit. 2019-20-2]. Dostupné z: <https://phys.org/news/2015-11-chemical-contaminants-foodshealth-perception.html>.
- Chassaing, B., Rolhion, N., de Vallée, A., Salim, S. Y., Prorok-Hamon, M., Neut, C., Campbell, B.J., Söderholm, J.D., Hugot, J.P., Colombel, J.F., Darfeuille-Michaud, A. Crohn disease associated adherent-invasive *E. coli* bacteria target mouse and human Peyer's patches via long polar fimbriae. *J. Clin. Invest.* 2011, 121, 966-975.
- Chaubey, K.K., Singh, S.V., Gupta, S., Singh, M., Sohal, J.S., Kumar, N., Singh, M.K., Bhatia, A.K., Dhama, K. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* – an important food borne pathogen of high public health significance with special reference to India: an update. *Vet. Quart.* 2017, 37, 282-299.
- Chilliard, Y., Glasser, F., Ferlay, A., Bernard, L., Rouel, J., Doreau, M. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. *Eur. J. Lipid Sci. Tech.* 2007, 109, 828-855.
- Chilliard, Y., Ferlay, A. Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. *Reprod. Nutr. Dev.* 2004, 44, 467-492.
- Chilliard, Y., Ferlay, A., Rouel, J., Lamberet, G. A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. *J. Dairy Sci.* 2003, 86, 1751-1770.
- Chilliard, Y., Ferlay, A., Mansbridge, R.M., Doreau, M. Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Ann. Zootech.* 2000 49, 181-205.



- Chramostová, J., Rubina, N., Šedivcová, V., Dragoun, M., Němečková, I., Roubal, P. Vliv chladírenských teplot na růst a proteolytickou činnost mikroorganismů syrového mléka. *Mlékařské listy* 2014, 146, 10 – 13.
- Churrua, I., Fernández-Quintela, A., Portillo, M.P. Conjugated linoleic acid isomers: Differences in metabolism and biological effects. *BioFactors* 2009, 35,105-111.
- Ikonomopoulos, J., Pavlik, I., Bartos, M., Svastova, P., Ayele, W.Y., Roubal, P., Lukas, J., Cook, N., Gazouli, M. Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in retail cheeses from Greece and the Czech Republic. *Appl. Envir. Microbiol.* 2005, 71, 8934-8936.
- Jančová, J., Škapová, T. *Listeria monocytogenes* – původce listeriózy. Zpravodaj centra MPI, Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, 2007, 3, 2-4.
- Jenkins, T.C., Wallace, R.J., Moate, P.J., Mosley, E.E. Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. *J. Anim. Sci.* 2008, 86, 397-412.
- Jensen, R. G. The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *J. Dairy Sci.* 2002, 85, 295-350.
- Jičínská, E., Havlová, J. Patogenní mikroorganismy v mléce a mlékárenských výrobcích. Ústav zemědělských a potravinářských informací Praha, 1995, 106 s., ISBN 80-85120-47-X.
- Jones, B.A., Grace, D., Kock, R., Alonso, S., Rushton, J., Said, M.Y., McKeever, D., Mutua, F., Young, J., McDermott, J., Pfeiffer, D.U. Zoonosis emergence linked to agricultural intensification and environmental change. *PNAS* 2013, 110, 8399-8404.
- Jorritsma, R., Wensing, T., Kruip, T.A.M., Vos, P.L.A.M., Noordhuizen, J.P.T.M. Metabolic changes in early lactation and impaired reproductive performance in dairy cows. *Vet. Res.* 2003, 34, 11–26.
- Jung, T. H., Park, J. H., Jeon, W. M., Han, K. S. Butyrate modulates bacterial adherence on LS174T human colorectal cells by stimulating mucin secretion and MAPK signaling pathway. *Nutr. Res. Pract.* 2015, 9, 343–349.
- Kala, R., Samková, E., Koubová, J., Hasoňová, L., Kváč, M., Pelikánová, T., Špička, J., Hanuš, O. Nutritionally desirable fatty acids including CLA of cow's milk fat explained by animal and feed factors. *Acta Univ. Agric. Silvic. Mendel. Brun.* 2018, 66, 69–76.
- Kálmán, M., Szöllösi, E., Czermann, B., Zimányi, M., Szekeres, S., Kálmán, M. Milkborne campylobacter infection in Hungary. *J. Food Prot.* 2000, 63, 1426-1429.
- Karch, H., Tarr, R, P.I., Bielaszewska, M. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in human medicine. *Int. Med. Microbiol.* 2005, 295, 405-418.
- Kawasaki, E. Type 1 diabetes and autoimmunity. *Clin. Pediatr. Endocrinol.* 2014, 23, 99–105.
- Kay, J.K., Weber, W.J., Moore, C.E., Bauman, D.E., Hansen, L.B., Chester-Jones, H., Crooker, B.A., Baumgard, L.H. Effects of week of lactation and genetic selection for milk yield on milk fatty acid composition in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 2005, 88, 3886–3893.
- Kelsey, J.A., Corl, B.A., Collier, R.J., Bauman, D.E. The effect of breed, parity, and stage of lactation on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2003, 86, 2588–2597.
- Khan, M.Z., Zahoor, M. An Overview of Brucellosis in Cattle and Humans, and its Serological and Molecular Diagnosis in Control Strategies. *Trop. Med. Infect. Dis.* 2018, 65, 1-14.
- Koluman, A., Dikici, A., Kahraman, T., İncili, G.K. Food safety and climate change: seasonality and emerging food borne pathogens. *J. Gastroenterol. Res.* 2017, 1, 24-29.
- Konishi, Y., Kuwabara, K., Hori, S. Continuous surveillance of organochlorine compounds in human breast milk from 1972 to 1998 in Osaka, Japan. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 2001, 40, 571-578.
- Kopecna, M., Parmova, I., Dvorska-Bartosova, L., Moravkova, M., Babak, V., Pavlik, I. Distribution and transmission of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in farmed red deer (*Cervus elaphus*) studied by faecal culture, serology and IS900 RFLP examinations. *Vet Med.* 2008, 53, 510–523.

- Köse, Ş., Serin, S. S., Akkoçlu, G., Kuzucu, L., Ulu, Y., Ersan, G., Oğuz, F. Clinical manifestations, complications, and treatment of brucellosis: evaluation of 72 cases. *Turk. J. Med. Sci.* 2014, 44, 220-223.
- Koubová, J. Osobní sdělení. Státní zemědělská a potravinářská inspekce, 2019.
- Koubová, J., Samková, E., Hasoňová, L. Food fraud detection by Czech Agricultural and Food Inspection Authority in retail market. *Br. Food J.* 2018, 120, 930-938.
- Klinedinst, P. L., Wilhite, D. A., Hahn, G. L., Hubbard, K. G. The potential effects of climate change on summer season dairy cattle milk production and reproduction. *Climatic Change* 1993, 23, 21-36.
- Kramer, J.M., Gilbert, R.J. *Bacillus cereus* and other *Bacillus* species. In: Doyle, M.P. (Ed.) Food borne bacterial pathogens, Marcel Dekker, New York, 1989, pp. 21-70.
- Kramer, J. K. G., Parodi, P. W., Jensen, R. G., Mossoba, M.M., Yurawecz, M.P., Adlof, R.O. Rumenic acid: A proposed common name for the major conjugated linoleic acid isomer found in natural products. *Lipids* 1998, 33, 835-835.
- Kuba, J., Tomza-Marciniak, A., Pilarczyk, B., Tarasewicz, N., Pilarczyk, R., Ligocki, M. Comparison of DDT and its metabolites concentrations in cow milk from agricultural and industrial areas. *J. Environ. Sci. Health, Part B* 2015, 50, 1-7.
- Kumar, A., Lal, D., Seth, R., Sharma, V. Detection of milk fat adulteration with admixture of foreign oils and fats using a fractionation technique and the apparent solidification time test. *Int. J. Dairy Tech.* 2010, 63, 457-462.
- Laakso, P., Manninen, P., Mäkinen, J., Kallio, H. Postparturition changes in the triacylglycerols of cow colostrum. *Lipids* 1996, 31, 937-943.
- Lake, S.L., Weston, T.R., Scholljegerdes, E.J., Murrieta, C.M., Alexander, B.M., Rule, D.C., Moss, G.E., Hess, B.W. Effects of postpartum dietary fat and body condition score at parturition on plasma, adipose tissue, and milk fatty acid composition of lactating beef cows. *J. Anim. Sci.* 2007, 85, 717-730.
- Lambeth, C., Reddacliff, L.A., Windsor, P., Abbott, K.A., McGregor, H., Whittington, R.J. Intrauterine and transmammary transmission of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in sheep. *Austral. Vet. J.* 2004, 82, 504-508.
- Larsen, A.B., Stalheim, O.H., Hughes, D.E., Appell, L.H., Richards, W.D., Himes, E.M. *Mycobacterium paratuberculosis* in the semen and genital organs of a semen-donor bull. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1981, 179, 169-171.
- Lassen, J., Poulsen, N.A., Larsen, M.K., Buitenhuis, A.J. Genetic and genomic relationship between methane production measured in breath and fatty acid content in milk samples from Danish Holsteins. *Anim. Prod. Sci.* 2016, 56, 298-303.
- Leedom, J.M. Milk of nonhuman origin and infectious diseases in humans. *Clin. Infect. Dis.* 2006, 43, 610-5.
- Leiber, F., Kreuzer, M., Nigg, D., Wettstein, H.R., Scheeder, M.R.L. A study on the causes for the elevated n-3 fatty acids in cows' milk of alpine origin. *Lipids* 2005, 40, 191-202.
- Leroy, F., Vuyst, L. D. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends Food Sci. Technol.* 2004, 15, 67-78.
- Le Jeune, J.T., Rajala-Schultz, P.J. Unpasteurized milk: a continued public health treat. *Food Saf.* 2005, 48, 93-100.
- Lichtenstein, A. H., & Jones, P. J. H. (2012). Lipids: Absorption and Transport. In Erdman Jr, J. W., MacDonald, I. A., & Zeisel, S. H. (Eds.), Present knowledge in nutrition (pp 118-131). New York, USA: John Wiley & Sons.
- Linam, W. M., Gerber, M. A. Changing epidemiology and prevention of *Salmonella* infections. *J. Pediat. Inf. Dis.* 2007, 26, 747-748.
- Lindahl, J.F., Grace, D. The consequences of human actions on risks for infectious diseases: a review. *Infect. Ecol. Epidemiol.* 2015, 5, 30048- doi.org/10.3402/iee.v5.30048.

- Lock, A.L., Bauman, D.E. Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. *Lipids* 2004, 39, 1197-1206.
- Loir, Y., Baron, F., Gautier, M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet. Mol. Res.* 2003, 2, 63-76.
- Loor, J.J., Ferlay, A., Ollier, A., Ueda, K., Doreau, M., Chilliard, Y. High-concentrate diets and polyunsaturated oils alter trans and conjugated isomers in bovine rumen, blood, and milk. *J. Dairy Sci.* 2005, 88, 3986-3999.
- Lord, N., Flores Elizondo, C. J., Spencer, J. The dynamics of food fraud: The interactions between criminal opportunity and market (dys)functionality in legitimate business. *Criminol. Crim. Justice* 2017, 17, <http://dx.doi.org/10.1177/1748895816684539>.
- Lovegrove, J. A., Givens, D. I. Dairy food products: Good or bad for cardiometabolic disease? *Nutr. Res. Rev.* 2016, 29, 249-267.
- LPSN. List of prokaryotic names with standing in nomenclature. [online]. 2019 [cit. 2019-1-30]. Dostupné z: <http://www.bacterio.net/index.html>.
- Mameli, G., Cossu, D., Cocco, E., Masala, S., Frau, J., Marrosu, M.G., Sechi, L.A. Epstein-Barr virus and *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* peptides are cross recognized by anti-myelin basic protein antibodies in multiple sclerosis patients. *J. Neuroimmunol.* 2014, 270, 51-55.
- Månsson, H. L. Fatty acids in bovine milk fat. *Food Nutr. Res.* 2008, 52, 1-3.
- Mantur, B. G., Amarnath, H. S. K., Shinde, R. S. Review of clinical and laboratory features of human brucellosis. *Ind. J. Med. Microbiol.* 2007, 25, 188-202.
- Marejková, M., Roháčová, H., Reisingerová, M., Petráš, P. Velká německá epidemie vyvolaná shigatoxigenním kmenem *Escherichia coli* O104:H4 a jeden importovaný případ v České republice. Zprávy centra epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav Praha, 2011, 20, 170-173.
- Marks, D. J. B., Rahman, F. Z., Sewell, G.W., Segal, A.W. Crohn's disease: An immune deficiency state. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2010, 38, 20-31.
- Mayer H.K., Fiechter G. Physical and chemical characteristics of sheep and goat milk in Austria. *Int. Dairy J.* 2012, 24, 57-63.
- Meikle, A., Kulcsar, M., Chilliard, Y., Febel, H., Delavaud, C., Cavestany, D., Chilibroste, P. Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction* 2004, 127, 727-737.
- Mele, M., Conte, G., Castiglioni, B., Chessa, S., Macciotta, N.P.P., Serra, A., Buccioni, A., Pagnacco, G., Secchiari, P. Stearoyl-Coenzyme A desaturase gene polymorphism and milk fatty acid composition in Italian Holsteins. *J. Dairy Sci.* 2007, 90, 4458-4465.
- Mele, M., Dal Zotto, R., Cassandro, M., Conte, G., Serra, A., Buccioni, A., Bittante, G., Secchiari, P. Genetic parameters for conjugated linoleic acid, selected milk fatty acids, and milk fatty acid unsaturation of Italian Holstein-Friesian cows. *J. Dairy Sci.* 2009, 92, 392-400.
- Melo, J., Andrew, P.W., Faleiro, M.L. *Listeria monocytogenes* in cheese and the dairy environment remains a food safety challenge: The role of stress responses. *Food Res. Int.* 2015, 67, 75-90.
- McLinden, T., Sargeant, J.M., Thomas, M.K., Papadopoulos, A., Fazil, A. Component costs of foodborne illness: a scoping review. *BMC Public Health* 2014, 14, 509.
- McManus A., Merga M., Newton W. Omega-3 fatty acids. What consumers need to know? *Appetite* 2011, 57, 80-83.
- MCNeese, A.L., Markesich, D., Zayyani, N.R., Graham, D.Y. *Mycobacterium paratuberculosis* as a cause of Crohn's disease. *Expert. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2015, 9, 1523-1534.
- Mele, M., Dal Zotto, R., Cassandro, M., Conte, G., Serra, A., Buccioni, A., Bittante, G., Secchiari, P. Genetic parameters for conjugated linoleic acid, selected milk fatty acids, and milk fatty acid unsaturation of Italian Holstein-Friesian cows. *J. Dairy Sci.* 2009, 92, 392-400.
- Melini, F., Melini, V., Luziatelli, F., Ruzzi, M. Raw and Heat-Treated Milk: From Public Health Risks to Nutritional Quality. *Beverages* 2017, 3, 1-33.



- Mensink, R. P. Effects of stearic acid on plasma lipid and lipoproteins in humans. *Lipids* 2005, 40, 1201-1205.
- Mihajlovic, B., Klassen, M., Springthorpe, S., Couture, H., Farber, J. Assessment of sources of exposure for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in food and water. *Int. Food Risk Anal. J.* 2011, 1, 1-22.
- Miller, N., Delbecchi, L., Petitclerc, D., Wagner, G.F., Talbot, B.G., Lacasse, P. Effect of stage of lactation and parity on mammary gland cell renewal. *J. Dairy Sci.* 2006, 89, 4669-4677.
- Mills, S., Ross, R.P., Hill, C., Fitzgerald, G.F., Stanton, C. Milk intelligence: mining milk for bioactive substances associated with human health. *Int. Dairy J.* 2011, 21, 377-401.
- Molkentin, J. Applicability of organic milk indicators to the authentication of processed products. *Food Chem.* 2013, 137, 25-30.
- Moore, J.C., Spink, J., Lipp, M. Development and application of a database of food ingredient fraud and economically motivated adulteration from 1980 to 2010. *Food Sci.* 2012, 77, 108-16.
- Morgan, G., Chadwick, P., Lander, K.P., Gill, K.P.W. *Campylobacter jejuni* mastitis in a cow. A zoonosis-related incident. *Vet. Rec.* 1985, 116, 111.
- Mørkbak, M.R., Christensen, T., Gyrd-Hansen, D. Consumers' willingness to pay for safer meat depends on the risk reduction methods – A Danish case study on *Salmonella* risk in minced pork. *Food Control* 2011, 22, 445-451.
- Mosley, E.E., Shafii, B., Moate, P.J., McGuire, M.A. Cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid is synthesized directly from vaccenic acid in lactating dairy cattle. *J. Nutr.* 2006, 136, 570-575.
- Mosley, E.E., McGuire, M.A. Methodology for the in vivo measurement of the delta9-desaturation of myristic, palmitic, and stearic acids in lactating dairy cattle. *Lipids* 2007, 42, 939-945.
- Mougiou, V., Matsakas, A., Petridou, A., Ring, S., Sagredos, A., Melissopoulou, A., Tsigilis, N., Nikolaidis, M. Effect of supplementation with conjugated linoleic acid on human serum lipids and body fat. *J. Nutr. Biochem.* 2001, 12, 585-594.
- Mulligan, F.T., O'Grady, L., Rice, D.A., Doherty, M.L. A herd health approach to dairy cow nutrition and production diseases of the transition cow. *Anim. Reprod. Sci.* 2006, 96, 331-353.
- Mutharia, L.M., Klassen, M. D., Fairles, J., Barbut, S., Gill, C. O. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in muscle, lymphatic and organ tissues from cows with advanced Johne's disease. *Int. J. Food Microbiol.* 2010, 136, 340-344.
- Nařízení Evropského Parlamentu a Rady (ES) č. 178/2002 ze dne 28. ledna 2002, kterým se stanoví obecné zásady a požadavky potravinového práva, zřizuje se Evropský úřad pro bezpečnost potravin a stanoví postupy týkající se bezpečnosti potravin. L31/1, 463-486.
- Nařízení Komise (EU) č. 212/2013 ze dne 11. března 2013, kterým se nahrazuje příloha I nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 396/2005, pokud jde o doplnění a změny ohledně produktů uvedených v této příloze. L68/30, 23 ss.
- Naser, S.A., Thanigachalam, S., Dow, C.T., Collins, M.T. Exploring the role of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in the pathogenesis of type 1 diabetes mellitus: a pilot study. *Gut. Pathog.* 2013, 5, 14.
- Naser, S.A., Schwartz, D., Shafran, I. Isolation of *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis* from breast milk of Crohn's disease patients. *Am. J. Gastroenterol.* 2000; 95: 1094-95.
- Nauta, M.J., Van der Giessen, J.W.B. Human exposure to *Mycobacterium paratuberculosis* via pasteurised milk: A modelling approach. *Vet. Rec.* 1998, 143, 293-296.
- Nollet, L. M., Toldrá, F. (Eds.). Safety analysis of foods of animal origin. CRC Press. 2017, 1002 pp., ISBN ISBN 9781138112216.
- Nyachuba, D.G. Foodborne illness: is it on the rise? *Nutrition Rev.* 2010, 68, 257-269.
- O'Donnell, A.M., Spatny, K.P., Vicini, J.L., Bauman, D.E. Survey of the fatty acid composition of retail milk differing in label claims based on production management practices. *J. Dairy Sci.* 2010, 93, 1918-1925.

- OIE. Disease information - Disease distribution maps [online]. © World Organisation for Animal Health. 2019 [cit. 2019-2-15]. Dostupné z: [http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasehome](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasehome).
- Oliver, SP, Jayarao, BM, Almeida, RA. Foodborne pathogens in milk and the dairy farm environment: food safety and public health implications. *Foodborne Pathog. Dis.* 2005, 2, 115–129.
- O'Reilly, C.E., O'Connor, L., Anderson, W., Harvey, P., Grant, I.R., Donaghy, J., Rowe, M., O'Mahony, P. Surveillance of bulk tank and commercially pasteurized cow's milk from approved Irish liquid-milk pasteurization plants to determine the incidence of *Mycobacterium paratuberculosis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2004, 70, 5138-5144.
- Palladino, R.A., Buckley, F., Prendiville, R., Murphy, J.J., Callan, J., Kenny, D.A. A comparison between Holstein-Friesian and Jersey dairy cows and their F-1 hybrid on milk fatty acid composition under grazing conditions. *J. Dairy Sci.* 2010, 93, 2176-2184.
- Palmquist, D.L. Milk fat: origin of fatty acids and influence of nutritional factors thereon, 43-92, In: Advanced Dairy Chemistry, Volume 2: Lipids, 3rd edition. Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (Eds.), Springer, New York, 2006, ISBN 978-0-387-26364-9.
- Palmquist, D.L., Beaulieu, A.D., Barbano, D.M. Feed and animal factors influencing milk-fat composition. *J. Dairy Sci.* 1993, 76, 1753–1771.
- Paolicchi, F., Cirone, K., Morsella, C., Gioffrè, A. First isolation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* from commercial pasteurized milk in Argentina. *Braz. J. Microbiol.* 2012, 43, 1034-1037.
- Parodi P. Has the association between saturated fatty acids, serum cholesterol and coronary heart disease been over emphasized? *Int. Dairy J.* 2009, 19, 345-361.
- Parodi, P. W. Milk fat in human nutrition. *Aust. J. Dairy Technol.* 2004, 59, 3.
- Pavlas, M. Z historie tlumení bovinní tuberkulózy v Československu. *Zvěrokruh* 2008, 12. Dostupné z <https://www.vetkom.cz/z-historie-tlumeni-bovinni-tuberkulozy-u-skotu-v-ceskoslovensku/>
- Pavlik, I., Matlova, L., Bartl, J., Svastova, P., Dvorska, L., Whitlock, R. Parallel faecal and organ *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* culture of different productivity types of cattle. *Vet. Microbiol.* 2000, 77, 309-324.
- Pedron, O., Cheli, F., Senatore, E., Baroli, D., Rizzi, R. Effect of body condition score at calving on performance, some blood parameters, and milk fatty acid composition in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1993, 76, 2528–2535.
- Peles, F., Wagner, M., Varga, L., Hein, I., Rieck, P., Gutser, K., Keresztúri, P., Kardos, G., Turcsányi, I., Béri, B., Szabó, A. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine milk in Hungary. *Int. J. Food Microbiol.* 2007, 118, 186-193.
- Penedo, L. A., Nunes, J. C., Gama, M. A., Leite, P. E., Quirico-Santos, T. F., & Torres, A. G. Intake of butter naturally enriched with cis9, trans11 conjugated linoleic acid reduces systemic inflammatory mediators in healthy young adults. *J. Nutr. Biochem.* 2013, 24, 2144–2151.
- Piccione, G., Messina, V., Schembari, A., Casella, S., Giannetto, C., Alberghina, D. Pattern of serum protein fractions in dairy cows during different stages of gestation and lactation, *J. Dairy Res.* 2011, 78, 421–425.
- Pineyrua, J.T.M., Farina, S.R., Mendoza, A. Effects of parity on productive, reproductive, metabolic and hormonal responses of Holstein cows. *Anim. Reprod. Sci.* 2018, 191, 9–21.
- Pires, J.A.A., Delavaud, C., Faulconnier, Y., Pomies, D., Chilliard, Y. Effects of body condition score at calving on indicators of fat and protein mobilization of periparturient Holstein-Friesian cows. *J. Dairy Sci.* 2013, 96, 6423–6439.
- Polder, A., Gabrielsen, G.W., Odland, J.O., Savinova, T.N., Tkachev, A., Loeken, K.B., Skaare, J.U. Spatial and temporal changes of chlorinated pesticides, PCBs, dioxins (PCDDs/PCDFs) and brominated flame retardants in human breast milk from Northern Russia. *Sci. Total Environ.* 2008, 391, 41-54.

- Ponsonby, A.L., Catto-Smith, A.G., Pezic, A., Dupuis, S., Halliday, J., Cameron, D., Morley, R., Carlin, J., Dwyer, T. Association between early-life factors and risk of child-onset Crohn's disease among Victorian children born 1983–1998: A birth cohort study. *Inflamm. Bowel Dis.* 2009, 15, 858–866.
- Quigley, L., McCarthy, R., O'Sullivan, O., Beresford, T.P., Fitzgerald, G.F., Ross, R.P., Stanton, C., Cotter, P.D. The microbial content of raw and pasteurized cow milk as determined by molecular approaches. *J. Dairy Sci.* 2013, 96, 4928–4937.
- Raghuvanshi, T., Singh, S.V., Sharma, R.B., Gupta, S., Chaubey, K.K., Kumar, N., Dhama, K. Identification of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in fresh cheese (paneer) from goat herds endemic for Johne's disease. *J. Infect. Mol. Biol.* 2013, 1, 46–48.
- Rajkovic, A., Uyttendaele, M., Vermeulen, A., Andjelkovic, M., Fitz-James, I., in't Veld, P., Denon, Q., Vêrhe, R., Debevere, J. Heat resistance of *Bacillus cereus* emetic toxin, cereulide. *Lett. Appl. Microbiol.* 2008, 46, 536–541.
- Ran-Ressler, R. R., Devapatla, S., Lawrence, P., Brenna, J. T. Branched chain fatty acids are constituents of the normal healthy newborn gastrointestinal tract. *Pediatr. Res.* 2008, 64, 605–609.
- Rapp, D., Ross, C.M., Cave, V.M. Excretion patterns of *Campylobacter jejuni* by dairy cows. *New Zeal. J. Agr. Res.* 2019, 62, 83–95.
- Rather, I.A., Koh, W.Y., Paek, W.K., Lim, J. The sources of chemical contaminants in food and their health implications. *Front. Pharmacol.* 2017, 8, 1–8.
- Raziani, F., Tholstrup, T., Kristensen, M.D., Svanegaard, M.L., Ritz, C., Astrup, A., Raben, A. High intake of regular-fat cheese compared with reduced-fat cheese does not affect LDL cholesterol or risk markers of the metabolic syndrome: a randomized controlled trial. *Am. J. Clin. Nutr.* 2016, 104, 973–81.
- Reuter, M., Mallett, A., Pearson, B.M., van Vliet, A.H.M. Biofilm formation by *Campylobacter jejuni* is increased under aerobic conditions. *Appl. Environm. Microbiol.* 2010, 76, 2122–2128.
- Ribera, L.A., Palma, M.A., Paggi, M., Knutson, R., Masabni, J.G., Anciso, J. Economic analysis of food safety compliance costs and foodborne illness outbreaks in the United States. *Hort Technol.* 2012, 22, 150–156.
- Robertson, R.E., Cerf, O., Condrón, R.J., Donaghy, J.A., Heggum, C., Jordan, K. Review of the controversy over whether or not *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* poses a food safety risk with pasteurised dairy products. *Int. Dairy J.* 2017;73:10–18.
- Roche, J.R., Friggens, N.C., Kay, J.K., Fisher, M.W., Stafford, K.J., Berry, D.P. Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *J. Dairy Sci.* 2009, 92, 5769–5801.
- Rohr, A., Luddecke, K., Drusch, S., Müller, M.J., Alvensleben, R.V. Food quality and safety—Consumer perception and public health concern. *Food Control* 2005, 16, 649–655.
- Román, S., Sánchez-Siles, L.M., Siegrist, M. The importance of food naturalness for consumers: Results of a systematic review. *Trends Food Sci. Technol.* 2017, 67, 44–57.
- Rosenquist, H., Smidt, L., Andersen, S. R., Jensen, G. B. and Wilcks, A. Occurrence and significance of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* in ready-to-eat food. *FEMS Microbiol. Lett.* 2005, 250, 129–136.
- Rossiter, C.A., Henning, W.R. Isolation of *Mycobacterium paratuberculosis* (*M.ptb*) from thin market cows at slaughter. *J. Anim. Sci.* 2001, 79, 113–114.
- Rukkamsuk, T., Geelen, M.J.H., Kruip, T.A.M., Wensing, T. Interrelation of fatty acid composition in adipose tissue, serum, and liver of dairy cows during the development of fatty liver postpartum. *J. Dairy Sci.* 2000, 83, 52–59.
- Samanc, H., Stojić, V., Kirovski, D., Jovanović, M., Cernescu, H., Vujanac, I. Thyroid hormones concentrations during the mid-dry period: an early indicator of fatty liver in Holstein-Friesian Dairy Cows. *J. Thyroid Res.* 2010, 7, 897602, doi:10.4061/2010/897602.

- Samková, E., Koubová, J., Hasoňová, L., Hanuš, O., Kala, R., Kváč, M., Pelikánová, T., Špička, J. Joint effects of breed, parity, month of lactation, and cow individuality on the milk fatty acids composition. *Mljekarstvo* 2018, 68, 98–107.
- Samková, E., Špička, J., Pešek, M., Pelikánová, T., Hanuš, O. Animal factors affecting fatty acid composition of cow milk fat: A review. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 2012, 42, 83–100.
- Sattar, S. A., Springthorpe, S., Maini, S., Gallant, M., Nair, R. C., Scott, E., Kain, J. Transfer of bacteria from fabrics to hand and other fabrics: development and application of a quantitative method using *Staphylococcus aureus* as a model. *J. Appl. Microbiol.* 2001, 90, 6, 62–970.
- Scanu, A.M., Bull, T.J., Cannas, S., Sanderson, J.D., Sechi, L.A., Dettori, G., Zanetti, S., Hermon-Taylor, J. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection in cases of irritable bowel syndrome and comparison with Crohn's disease and Johne's disease: common neural and immune pathogenicities. *J. Clin. Microbiol.* 2007, 45, 3883-3890.
- Scott, W.G., Scott, H.M., Lake, R.J., Baker, M.G. Economic cost to New Zealand of foodborne infectious disease. *N. Z. Med. J.* 2000, 113, 281-284.
- Seitz, S.E., Heider, L.E., Hueston, W.D., Bech-Nielsen, S., Rings, D.H., Spangler L. Bovine fetal infection with *Mycobacterium paratuberculosis*. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1989, 194, 1423–1426.
- Semenza, J. C., Menne, B. Climate change and infectious diseases in Europe. *The Lancet Inf. Dis.* 2009, 9, 365–375.
- Shankar, H., Singh, S.V., Singh, P.K., Singh, A.V., Sohal, J.S., Greenstein, R.J. Presence, characterization, and genotype profiles of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* from unpasteurized individual and pooled milk, commercial pasteurized milk, and milk products in India by culture, PCR, and PCR–REA methods. *Int. J. Infect. Dis.* 2010, 14, 121–126.
- Shingfield, K.J., Bonnet, M., Scollan, N.D. Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. *Animal* 2013, 7, 132-162.
- Shingfield, K.J., Bernard, L., Leroux, C., Chilliard, Y. Role of trans fatty acids in the nutritional regulation of mammary lipogenesis in ruminants. *Animal* 2010, 4, 1140-1166.
- Shingfield, K.J., Griinari, J.M. Role of biohydrogenation intermediates in milk fat depression. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2007, 109, 799-816.
- Scharff, R.L., McDowell, J., Medeiros, L. Economic cost of foodborne illness in Ohio. *J. Food Prot.* 2009, 72, 128-136.
- Scharlau, D., Borowicki, A., Habermann, N., Hofmann, T., Klenow, S., Miene, C., Munjal, U., Stein, K., Gleis, M. Mechanisms of primary cancer prevention by butyrate and other products formed during gut flora-mediated fermentation of dietary fibre. *Mutat. Res.* 2009, 682, 39–53.
- Schoeni, J.L. *Bacillus cereus* food poisoning and its toxins. *J. Food Protect.* 2005, 68, 636–648.
- Schmidely P., Andrade P.V.D. Dairy performance and milk fatty acid composition of dairy goats fed high or low concentrate diet in combination with soybeans or canola seed supplementation. *Small Ruminant Res.* 2011, 99, 135-142.
- Schulz, K., Frahm, J., Meyer, U., Kersten, S., Reiche, D., Rehage, J., Danicke, S. Effects of prepartal body condition score and peripartal energy supply of dairy cows on postpartal lipolysis, energy balance and ketogenesis: An animal model to investigate subclinical ketosis. *J. Dairy Res.* 2014, 81, 257–266.
- Simopoulos A. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Exp. Biol. M.* 2008, 233, 674-688.
- Singh, P., Gandhi, N. Milk preservatives and adulterants: processing, regulatory and safety issues. *Food Rev. Int.* 2015, 31, 236-261.
- Sippy, R., Sandoval-Green, C.M., Sahin, O., Plummer, P., Fairbanks, W.S., Zhang, Q., Blanchong, J.A. Occurrence and molecular analysis of *Campylobacter* in wildlife on livestock farms. *Vet. Microbiol.* 2012, 157:369–375.

- Sisto, M., Cucci, L., D'Amore, M., Dow, T.C., Mitolo, V., Lisi, S. Proposing a relationship between *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection and Hashimoto's thyroiditis. *Scand. J. Infect. Dis.* 2010, 42, 787–790.
- Slana, I., Paolicchi, F., Janstova, B., Navratilova, P., Pavlik, I. Detection methods for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in milk and milk products: a review. *Vet. Med.* 2008a, 53, 283–306.
- Slana, I., Kralik, P., Kralova, A., Pavlik, I. On-farm spread of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in raw milk studied by IS900 and F57 competitive real time quantitative PCR and culture examination. *Int. J. Food Microbiol.* 2008b, 128, 250–257.
- Smith, T.R., McNamara, J.P. Regulation of bovine adipose-tissue metabolism during lactation. 6. Cellularity and hormone-sensitive lipase activity as affected by genetic merit and energy intake. *J. Dairy Sci.* 1990, 73, 772–783.
- Sofi, F., Buccioni, A., Cesari, F., Gori, A. M., Minieri, S., Mannini, L., Casini, A., Gensini, G.F., Abbate, R., Antongiovanni, M. Effects of a dairy product (pecorino cheese) naturally rich in cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid on lipid, inflammatory and haemorheological variables: A dietary intervention study. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2010, 20, 117–124.
- Soják, L., Blaško, J., Kubinec, R., Górová, R., Addová, G., Ostrovský, I., Margetin, M. Variation among individuals, breeds, parities and milk fatty acid profile and milk yield of ewes grazed on pasture. *Small Rum. Res.* 2013, 109, 173-181.
- Soto, A.M., Sonnenschein, C. DDT, endocrine disruption and breast cancer. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2015, 11, 507-508.
- Soyeurt, H., Dardenne, P., Gillon, A., Croquet, C., Vanderick, S., Mayeres, P., Bertozzi, C., Gengler, N. Variation in fatty acid contents of milk and milk fat within and across breeds. *J. Dairy Sci.* 2006, 89, 4858-4865.
- Soyeurt, H., Gillon, A., Vanderick, S., Mayeres, P., Bertozzi, C., Gengler, N. Estimation of heritability and genetic correlations for the major fatty acids in bovine milk. *J. Dairy Sci.* 2007, 90, 4435-4442.
- Spink, J., Moyer, D.C. Defining the public health threat of food fraud. *J. Food Sci* 2011, 76, 157-163.
- Spink, J., Ortega, D. L., Chen, C., & Wu, F. (2017). Food fraud prevention shifts the food risk focus to vulnerability. *Trends Food Sci. Technol.* 2017, 62, 215-220.
- Stabel, J.R., Bradner, L., Robbe-Austerman, S., Beitz, D.C. Clinical disease and stage of lactation influence shedding of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* into milk and colostrum of naturally infected dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2014, 97, 6296-6304.
- Stádník, L., Ducháček, J., Okrouhlá, M., Ptáček, M., Beran, J., Stupka, R., Zita, L. The effect of parity on the proportion of important healthy fatty acids in raw milk of Holstein cows. *Mljekarstvo* 2013, 63, 195–202.
- Stanley, K., Jones, K. Cattle and sheep farms as reservoirs of *Campylobacter*. *J. Appl. Microbiol.* 2003, 94, 104–113.
- Stejskalová, L. Automaty na mléko v ČR. Profí Press s.r.o. [online] 2010 [cit. 2019-03-12]. Dostupné z: <https://vetweb.cz/automaty-na-mleko-v-cr/>.
- Stephan, R., Schumacher, S., Tasara, T., Grant, I.R. Prevalence of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in Swiss raw milk collected at the retail level. *J. Dairy Sci.* 2007, 90, 3590-3595.
- Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POPs). [online] 2009, 64 pp. [cit. 2019-01-28]. Dostupné z: [https://www.env.go.jp/chemi/pops/treaty/treaty\\_en2009.pdf](https://www.env.go.jp/chemi/pops/treaty/treaty_en2009.pdf).
- Stoop, W.M., Bovenhuis, H., Heck, J.M.L., van Arendonk, J.A.M. Effect of lactation stage and energy status on milk fat composition of Holstein-Friesian cows. *J. Dairy Sci.* 2009, 92, 1469–1478.
- Streeter, R.N., Hoffsis, G.F., Bech-Nielsen, S., Shulaw, W. P., Rings, D.M. Isolation of *Mycobacterium paratuberculosis* from colostrum and milk of subclinically infected cows. *Am. J. Vet. Res.* 1995 56, 1322–1324.

- Strzałkowska N., Józwiak A., Bagnicka E., Krzyżewski J., Horbańczuk K., Pyzel B., Horbańczuk J.O. Chemical composition, physical traits and fatty acid profile of goat milk as related to the stage of lactation. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 2009, 27, 311-320.
- Svensson, B., Monthán, A., Shaheen, R., Andersson, M.A., Salkinoja-Salonen, M., Christiansson, A. Occurrence of emetic toxin producing *Bacillus cereus* in the dairy production chain. *Int. Dairy J.* 2006, 16, 740-749.
- SVS ČR. Registrované subjekty – Pro přímý prodej – Prodejci syrového mléka [online]. © 2009-2019, Ministerstvo zemědělství. [cit. 2019-2-28]. Dostupné z: <https://www.svs.cz/prodejci-syroveho-mleka/>.
- Sweeney, R.W., Whitlock, R.H., Rosenberger, A.E. *Mycobacterium paratuberculosis* cultured from milk and supramammary lymph nodes of infected asymptomatic cows. *J. Clin. Microbiol.* 1992a, 30, 166-171.
- Sweeney, R.W., Whitlock, R.H., Rosenberger, A.E. *Mycobacterium paratuberculosis* isolated from fetuses of infected cows not manifesting signs of the disease. *Am. J. Vet. Res.* 1992b, 53, 477-480.
- SZÚ. Perzistentní organické látky (POPs) v mateřském mléku. [online]. 2008 [cit. 2019-03-5]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/tema/zivotni-prostredi/perzistentni-organicke-latky-pops-v-materskem-mleku>.
- SZÚ. Vybrané infekční nemoci v ČR v letech 2008-2017 - absolutně. [online]. 2019 [cit. 2019-15-02]. Dostupné na: <http://www.szu.cz/publikace/data/vybrane-infekcni-nemoci-v-cr-v-letech-2008-2017-absolutne>.
- Tatini, S.R. Influence of food environments on growth of *Staphylococcus aureus* and production of various enterotoxins. *J. Milk Food Technol.* 1973, 36, 559-563.
- Taylor, M. W., A. K. H. MacGibbon, A.K.H. eds. Triacylglycerols. Vol. 3. Elsevier Science Ltd., London, UK, 2002.
- Thatcher, W., Santos, J.E.P., Staples, C.R. Dietary manipulations to improve embryonic survival in cattle. *Theriogenology* 2011, 76, 1619-1631.
- Thorning, T. K., Bertram, H. C., Bonjour, J.-P., de Groot, L., Dupont, D., Feeney, E., Ipsen, R., Lecerf, J.M., Mackie, A., McKinley M.C., Michalski, M.-C., Remond, D., Riserus, U., Soedamah-Muthu, S.S., Tholstrup, T., Weaver, C., Astrup, A., Givens, I. Whole dairy matrix or single nutrients in assessment of health effects: Current evidence and knowledge gaps. *Am. J. Clin. Nutr.* 2017, 105, 1033-1045.
- Thorning, T.K., Raben, A., Bendsen, N.T., Jørgensen, H.H., Kiilerich, P., Ardö, Y., Lorenzen, J.K., Kristiansen, K., Astrup, A. Importance of the fat content within the cheese-matrix for blood lipid profile, faecal fat excretion, and gut microbiome in growing pigs. *Int. Dairy J.* 2016, 61, 67-75.
- Timmen, H., Patton, S. Milk fat globules: fatty acid composition, size, and in vivo regulation of fat liquidity. *Lipids* 1988, 23, 685-689.
- Timms, V.J., Daskalopoulos, G., Mitchell, H.M., Neilan, B.A. The association of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* with Inflammatory Bowel Disease. *PLoS One* 2016, 11, 0148731.
- Tirado, M. C., Clarke, R., Jaykus, L. A., McQuatters-Gollop, A., Frank, J. M. Climate change and food safety: A review. *Food Res. Int.* 2010, 43, 1745-1765.
- Tollin, M., Bergsson, G., Kai-Larsen, Y., Lenggqvist, J., Sjövall, J., Griffiths, W., Skúladóttir, G.V., Haraldsson, A., Jörnvall, H., Gudmundsson, G.H., Agerberth, B. Vernix caseosa as a multi-component defence system based on polypeptides, lipids and their interactions. *Cell. Mol. Life Sci.* 2005, 62, 2390-2399.
- Tricon S., Burge G., Jones E., Russell J., El-Khazen S., Moretti E., Hall W., Gerry A., Leake D., Grimble R., Williams C., Calder P., Yaqoob P. Effects of dairy products naturally enriched with cis-9,trans-11 conjugated linoleic acid on the blood profile in healthy middle-aged men. *Am. J. Clin. Nutr.* 2006, 83, 744-753.
- Tudisco R., Cutrignelli M.I., Calabrò S., Piccolo G., Bovera F., Guglielmelli A., Moniello G., Infascelli F. Influence of organic systems on milk fatty acid profile and CLA in goats. *Small Ruminant Res.* 2010, 88, 151-155.

- Tunegová, M., Samková, E., Hasoňová, L., Klimešová, M., Marková, A., Kala, R., Toman, R. Occurrence of chemical contaminants in animal products during 1999 – 2016 in the Czech Republic. *Br. Food J.* 2018, 120, 2142-2154.
- Turusov, V., Rakitsky, V., Tomatis, L. Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT): Ubiquity, persistence and risks. *Environ. Health Perspect.* 2002, 110, 125-128
- Tyburczy, C., Lock, A.L., Dwyer, D.A., Destailats, F., Mouloungui, Z., Candy, L., Bauman, D.E. Uptake and utilization of trans octadecenoic acids in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2008, 91, 3850–3861.
- Ulbricht T., Southgate D. Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet* 1991, 338, 985-992.
- Useni, B.A., Muller, C.J.C., Cruywagen, C.W. Pre- and postpartum effects of starch and fat in dairy cows: A review. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 2018, 48, 413–426.
- Uzoigwe, J.C., Khaitisa, M.L., Gibbs, P.S. Epidemiological evidence for *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* as a cause of Crohn’s disease. *Epidemiol. Inf.* 2007, 1057-1068.
- Van den Berg, H., Manuweera, G., Konradsen, F. Global trends in the production and use of DDT for control of malaria and other vector-borne diseases. *Malar. J.* 2017, 16, 1-8.
- Van Dorland, H. A., Richter, S., Morel, I., Doherr, M. G., Castro, N., Bruckmaier, R. M. Variation in hepatic regulation of metabolism during the dry period and in early lactation in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2009, 92, 1924–1940.
- Van Haelst, Y.N.T., Beeckman, A., Van Kneegsel, A.T.M., Fievez, V. Short communication: Elevated concentrations of oleic acid and long-chain fatty acids in milk fat of multiparous subclinical ketotic cows. *J. Dairy Sci.* 2008, 91, 4683–4686.
- Van Kneegsel, A.T.M., van den Branda, H., Dijkstra, J., Tamminga, S., Kemp, B. Effect of dietary energy source on energy balance, production, metabolic disorders and reproduction in lactating dairy cattle. *Reprod. Nutr. Dev.* 2005, 45, 665–688.
- Vanrobays, M.L., Bastin, C., Vandenplas, J., Hammami, H., Soyeurt, H., Vanlierde, A., Dehareng, F., Froidmont, E., Gengler, N. Changes throughout lactation in phenotypic and genetic correlations between methane emissions and milk fatty acid contents predicted from milk mid-infrared spectra. *J. Dairy Sci.* 2016, 99, 7247–7260.
- van Ruth, S. M., Huisman, W., Luning, P. A. Food fraud vulnerability and its key factors. *Trends Food Sci. Technol.* 2017, 76, 70-75.
- Van Schaik, G., Stehman, S.M., Schukken, Y.H., Rossiter, C.R., Shin, S.J Pooled fecal culture sampling for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* at different herd sizes and prevalence. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2003, 15,233-241.
- Van Straten, M., Shpigel, N.Y., Friger, M. Analysis of daily body weight of high-producing dairy cows in the first one hundred twenty days of lactation and associations with ovarian inactivity. *J. Dairy Sci.* 2008, 91, 3353–3362.
- Van Wijlen, R. P. J., Colombani, P. C. Grass-based ruminant production methods and human bioconversion of vaccenic acid with estimations of maximal dietary intake of conjugated linoleic acids. *Int. Dairy J.* 2010, 20, 433–448.
- Verma, A.K., Dhama, K., Chakraborty, S., Kumar, A., Tiwari, R., Rahal, A., Mahima, Singh, S.V. Strategies for combating and eradicating important infectious diseases of animals with particular reference to India: Present and future perspectives. *Asian J. Anim. Vet. Adv.* 2014, 9, 77–106.
- Vernon, R.G. Lipid metabolism during lactation: A review of adipose tissue-liver interactions and the development of fatty liver. *J. Dairy Res.* 2005, 72, 460–469.
- Vernon, R.G., Flint, D.J. Lipid metabolism in farm animals. *Proc. Nutr. Soc.* 1988, 47, 287-293.
- Vilar, R.G., Macek, M.D., Simons, S., Hayes, P.S., Goldoft, M.J., Lewis, J.H., Rowan, L.L., Hursh, D., Patnode, M., Mead, P.S. Investigation of multidrug-resistant *Salmonella* serotype typhimurium DT104 infections linked to raw-milk cheese in Washington State. *JAMA* 1999, 281, 1811-1816.



- Vlaeminck, B., Fievez, V., Cabrita, A.R.J., Fonseca, A.J.M., Dewhurst, R.J. Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2006, 131, 389-417.
- Vohra, J., Singh, S.V., Singh, A.V., Singh, P.K., Sohal, J.S. Comparative distribution of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in the target and non-target tissues of goats and sheep population in India. *Indian J. Anim. Sci.* 2008, 78, 342-347.
- Vranković, L., Aladrović, J., Octenjak, D., Bijelić, D., Cvetnić, L., Stojević, Z. Milk fatty acid composition as an indicator of energy status in Holstein dairy cows. *Arch. Anim. Breed.* 2017, 60, 205-212.
- Wahle, K. W. J., Heys, S. D., Rotondo, D. Conjugated linoleic acids: Are they beneficial or detrimental to health? *Prog. Lipid Res.* 2004, 43, 553-587.
- Walsh, S.W., Williams, E.J., Evans, A.C.O. A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 2011, 123, 127-138.
- Wang, T., Oh, J.J., Lim, J.N., Hong, J.E., Kim, J.H., Kim, J.H., Kang, H.S., Choi, Y.J., Lee, H.G. Effects of lactation stage and individual performance on milk cis-9, trans-11 conjugated linoleic acids content in dairy cows. *Asian Australas. J. Anim.* 2013, 26, 189-194.
- Wathes, D.C., Abayasekara, D.R.E., Aitken, R.J. Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. *Biol. Reprod.* 2007a, 77, 190-201.
- Wathes, D.C., Cheng, Z., Bourne, N., Taylor, V.J., Coffey, M.P., Brotherstone, S. Differences between primiparous and multiparous dairy cows in the inter-relationships between metabolic traits, milk yield and body condition score in the periparturient period. *Domest. Anim. Endocrinol.* 2007b, 33, 203-225.
- Weber, M., Schaik, G.v. Results of the Dutch bulk milk quality assurance programme for paratuberculosis. In: Proceedings of the 9th International Colloquium on Paratuberculosis, Tsukuba, Japan, 29 October-2 November 2007, Ed. Nielsen, S.S., 2008, 324-327, ref. 6.
- Weber M.F., Kogut J., de Bree J., van Schaik G. Evidence for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* shedding in young stock. In: Proceedings of the Eight International Colloquium on Paratuberculosis (Nielsen S.S., ed.), 14-17 August 2005, Copenhagen, Denmark, 126.
- Wells, J.E., Bosilevac, J.M., Kalchayanand, N., Arthur, T.M., Shackelford, T.L., Wheeler, T.L., Koohmarie, M. Prevalence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Ileocecal Lymph Nodes and on Hides and carcasses from Cull cows and fed Cattle at commercial Beef Processing Plants in the United States. *J. Food Prot.* 2009, 72, 1457-1462.
- Whittington, R.J., Reddacliff, L. A., Marsh, I., McAllister, S., Saunders, V. Temporal patterns and quantification of excretion of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in sheep with Johne's disease. *Aust. Vet. J.* 2000, 79, 34-37.
- WHO. Global strategy for food safety: Safer food for better health. [online]. © World Health Organization. 2002. [cit. 2019-21-2]. Dostupné z: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42559/9241545747.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- WHO. Zoonotic tuberculosis. [online]. © World Health Organization 2017. [cit. 2019-1-30]. Dostupné z: <https://www.who.int/tb/zoonoticTB.pdf>
- Williams, C.M. Dietary fatty acids and human health. *Ann. Zootech.* 2000, 49, 165-180.
- Windsor, P. A., Whittington, R.J. Evidence for age susceptibility of cattle to Johne's disease. *Vet. J.* 2010, 184, 37-44.
- Yang, C, Jiang, Y, Huang, K, Zhu, C, Yin, Y. Application of real-time PCR for quantitative detection of *Campylobacter jejuni* in poultry, milk and environmental water. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2003, 38, 265-271.
- Zhang, Y., Zhou, L., Bao, Y. L., Wu, Y., Yu, C. L., Huang, Y. X., Sun, Y., Zheng, L.H., Li, Y.X. Butyrate induces cell apoptosis through activation of JNK MAP kinase pathway in human colon cancer RKO cells. *Chem. Biol. Interact.* 2010, 185, 174-181.



Žák, A., Macášek, J., Slabý, A., Staňková, B., Tvrzická, E., Vařeka, T., Vecka, M., Vitek, L., Zeman, M. Ateroskleróza, nové pohledy. Praha, ČR: Grada Publishing a.s., 2011, 200 s., ISBN 978-80-247-3052-3.

## 6 SEZNAM TABULEK

**Tabulka 9** Přehled hlavních mastných kyselin mléčného tuku

**Tabulka 10** Profil mastných kyselin v mléce domácích přežvýkavců

**Tabulka 11** Hostitelská specifita zástupců rodu *Brucella*

**Tabulka 12** Počty hlášených výskytů onemocnění z mléka v letech 2009 – 2015 v rámci Evropy

**Tabulka 13** Sérotypy *Salmonella enterica* izolované ze syrového mléka a mléčných výrobků ze syrového mléka

**Tabulka 14** Faktory ovlivňující růst a produkci enterotoxinů *Staphylococcus aureus*

**Tabulka 15** Příklady prevalence listeriózy v závislosti na fyziologickém a zdravotním stavu

**Tabulka 16** Roční náklady spojené s onemocněním shiga toxin produkující *Escherichia coli* O157 rozdělené dle závažnosti onemocnění

**Tabulka 9** Podíly vysvětlených faktorů ovlivňujících zastoupení vybraných mastných kyselin (FA) a jejich skupin

**Tabulka 10** Příklady prevalence *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* v syrovém a pasterizovaném mléce a mléčných produktech v závislosti na metodě detekce

**Tabulka 11** Modelové odhady expozice lidí *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* prostřednictvím pasterizovaného mléka

**Tabulka 12** Diseminace *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* v různých orgánech u různých druhů zvířat

**Tabulka 13** Vybraná onemocnění, která se dávají do souvislosti s *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*

**Tabulka 14** Průměrné hodnoty DDT ve vzorcích syrového kravského mléka (mg/kg tuku) z monitoringu v období 1999 - 2016

## 7 SEZNAM OBRÁZKŮ A GRAFŮ

**Obrázek 4** Role kyseliny máselné v organismu

**Obrázek 5** Diagram zajištění kvality a bezpečnosti napříč mléčným řetězcem od produkce po samotného konzumenta = komplexní provázaný systém

**Obrázek 6** Přehled celosvětového výskytu paratuberkulózy

**Obrázek 4** Obsah DDT (v mg/kg tuku) v syrovém kravském mléce a v másle v letech 1992 – 2002

**Graf 1** Rozložení nových případů zoonotické tuberkulózy za rok 2016 dle oblastí světa (n = 147 042)

**Graf 2** Počet případů onemocnění kampylobakteriózou a salmonelózou v letech 2010 – 2017 na našem území

**Graf 3** Zastoupení (% všech FA) kyselin palmitové a olejové na začátku (I), uprostřed (II) a na konci (III) laktace

**Graf 4** Suma DDT v mateřském mléce ( $\mu\text{g}/\text{kg}$  tuku) v letech 1994 – 2008

**Graf 5** Rozložení jednotlivých DDT metabolitů (%) v sumě DDT v syrovém kravském mléce

**Graf 6** Přehled o počtech mléčných automatů na našem území dle roku schválení

## 8 PŘÍLOHY

### 8.1 SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ JSOU SOUČÁSTÍ HABILITAČNÍ PRÁCE

#### 8.1.1 Publikace tvořící základ kapitoly 3.1

1. Hanuš, O., Samková, E., Křížová, L., Hasoňová, L., Kala, R. Role of fatty acids in milk fat and the influence of selected factors on their variability – A review. *Molecules*, 2018, 1636, 23, 1-32. (pokráčena o část „References“) (**J<sub>IMP</sub>**)
2. Samková, E., Koubová, J., Hasoňová, L., Hanuš, O., Kala, R., Kváč, M., Pelikánová, T., Špička, J. Joint effects of breed, parity, month of lactation, and cow individuality on the milk fatty acids composition. *Mljekarstvo*, 2018, 68, 98-107. (**J<sub>IMP</sub>**)
3. Kala, R., Samková, E., Koubová, J., Hasoňová, L., Kváč, M., Pelikánová, T., Špička, J., Hanuš, O. Nutritionally desirable fatty acids including CLA of cow's milk fat explained by animal and feed factors. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 2018, 66, 69-76. (**J<sub>SC</sub>**)

#### 8.1.2 Publikace tvořící základ kapitoly 3.2

4. Hasonova, L., Trcka, I., Babak, V., Rozsypalova, Z., Pribylova, R., Pavlik, I. Distribution of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in tissues of naturally infected cattle as affected by age. *Veterinární Medicína*, 2009, 54, 257-269. (**J<sub>IMP</sub>**)
5. Hasonova, L., Pavlik, I. Economic impact of paratuberculosis in dairy cattle herds: a review. *Veterinární Medicína*, 2006, 51, 193-211. (pokráčena o část „References“) (**J<sub>IMP</sub>**)
6. Tunegová, M., Samková, E., Hasoňová, L., Klimešová, M., Marková, A., Kala, R., Toman, R. Occurrence of chemical contaminants in animal products during 1999 – 2016 in the Czech Republic. *British Food Journal*, 2018, 120, 2142-2154. (**J<sub>IMP</sub>**)
7. Koubová, J., Samková, E., Hasoňová, L. Food fraud detection by Czech Agricultural and Food Inspection Authority in retail market. *British Food Journal*, 2018, 120, 930-938. (**J<sub>IMP</sub>**)
8. Hasoňová, L., Samková, E., Vočadlova, K., Straková, K. Od Pasteura zpět? Aneb tepelné ošetření mléka a jeho význam. *Výživa a potravin*, 2018, 5, 114-117. (**J<sub>REC</sub>**)
9. Hasoňová, L., Beerová, M., Samková, E.: Chováme se k mléku správně? Průzkum spotřebitelského chování při zacházení se syrovým kravským mlékem. *Mlékařské listy*, 2016, 27, 13-18. (**J<sub>REC</sub>**)
10. Hasoňová, L., Beerová, M., Samková, E., Klimešová, M., Kala, R. Změny v hodnotách celkového počtu mikroorganismů při skladování syrového kravského mléka. *Mlékařské listy* 2017, 28, 1-3. (**J<sub>REC</sub>**)

### 8.1.3 Vědecká monografie

11. Hasoňová, L. Potenciální zdravotní rizika konzumace mléka a mléčných výrobků. 17-25 s. In: Mléko: produkce a kvalita. *Vědecká monografie* (Samková, E. et al. Eds.), 1. vyd., České Budějovice: JU ZF, 2012, 240 ss., ISBN 978-80-7394-383-7. (pokrácena o část „References“)

## 8.2 VÝZKUMNÉ PROJEKTY PODPORUJÍCÍ VZNIK UVEDENÝCH PUBLIKACÍ

1. QJ1510336, *FAMAS\_2014: Výzkum a podpora produkce zdravotně a spotřebitelsky benefitních mléčných výrobků cílenou selekcí a modifikací profilu mastných kyselin mléčného tuku* (2015-2018). NAZV Komplexní udržitelné systémy v zemědělství 2012-2018 "KUS", poskytovatel MZe. Příjemce koordinátor: Jihočeská univerzita v Č. Budějovicích.
2. QJ1510339, *TechKval: Komplexní systém zvýšení kvality mléka, mléčných produktů a monitoring zdravotního stavu krav s cílem zvýšit přidanou hodnotu zemědělské produkce v ČR.* (2015-2018). NAZV Komplexní udržitelné systémy v zemědělství 2012-2018 "KUS", poskytovatel MZe. Příjemce koordinátor: VÚM Praha.